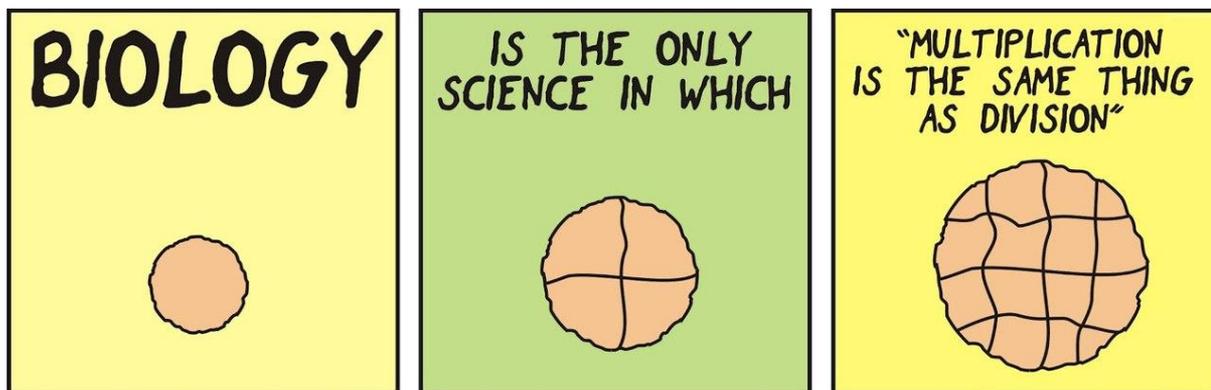


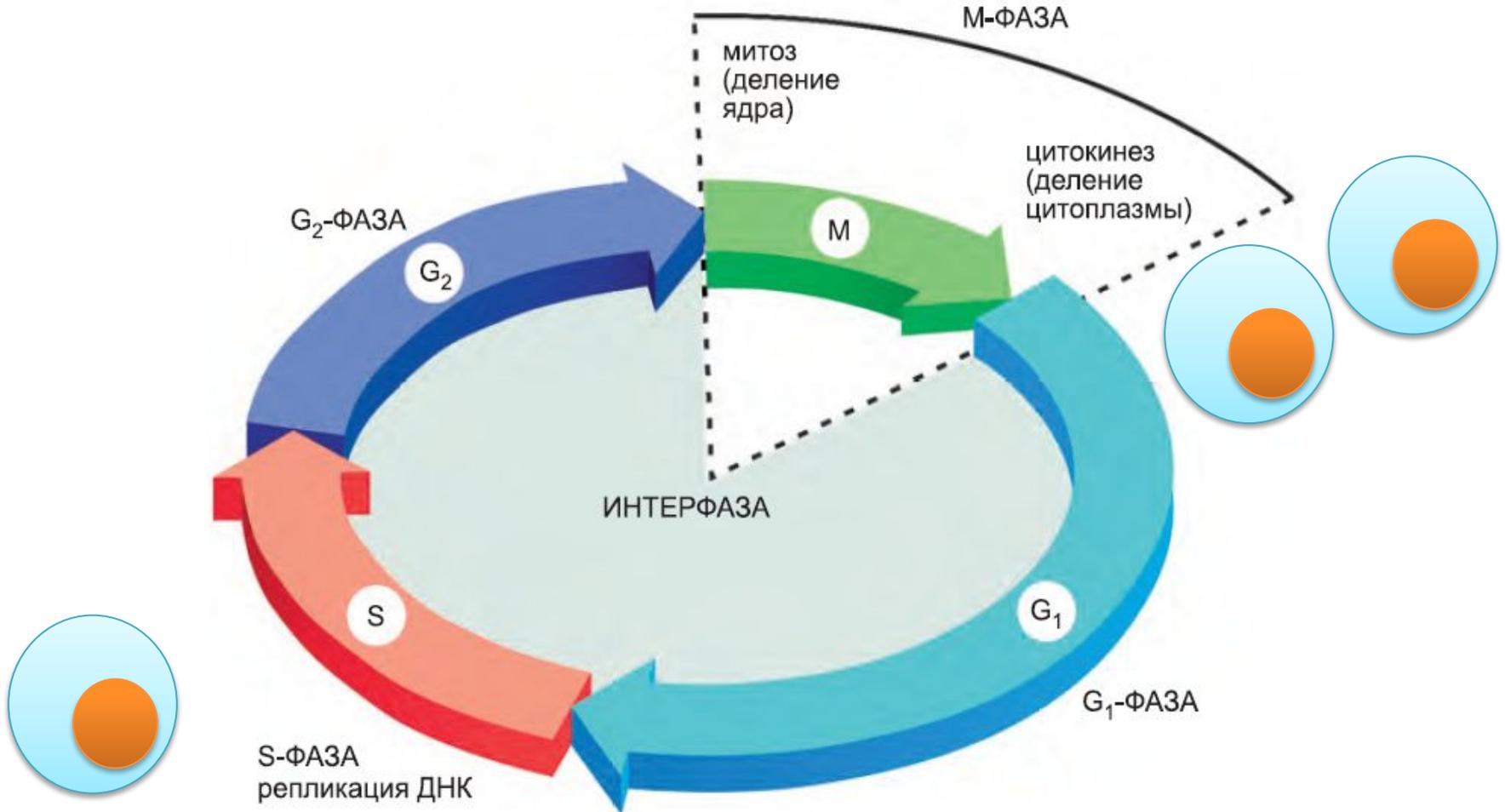


Клеточный цикл. Митоз.



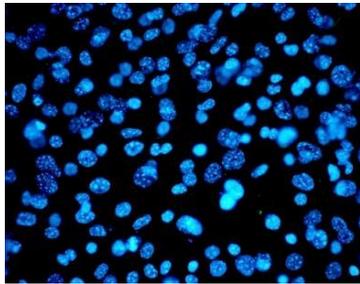
Клеточный цикл

Последовательность событий, которые приводят к делению эукариотической клетки на две дочерние клетки

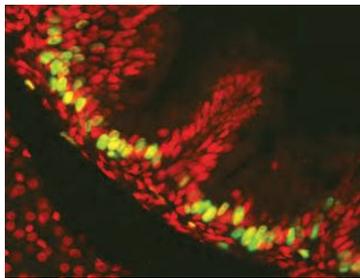


Подсчет клеток на разных стадиях КЦ

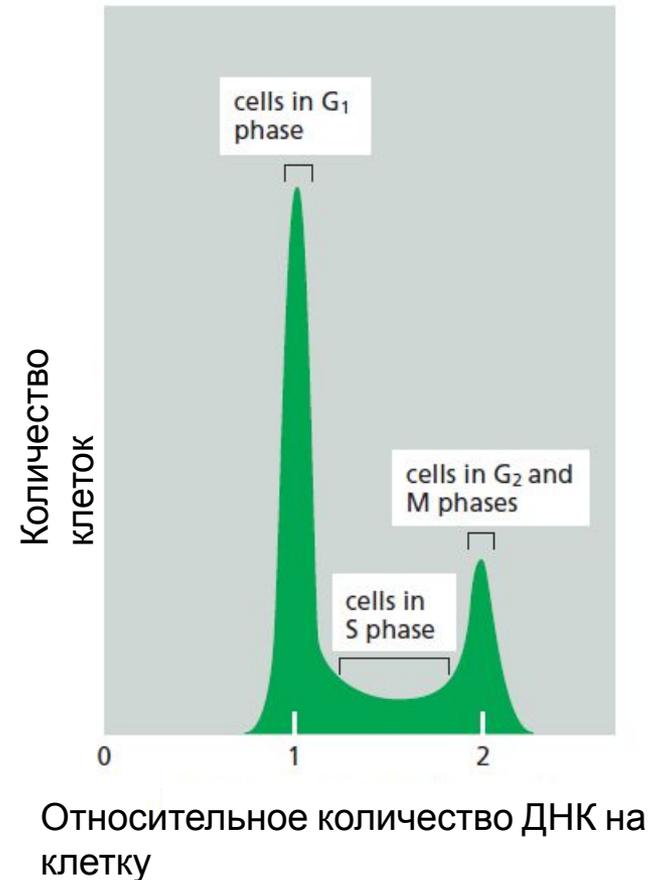
Проточная цитометрия клеток окрашенных флуорофором, связывающимся с ДНК (DAPI, Hoechst)



Окраска клеток флуорофором DAPI



Мечение BrdU

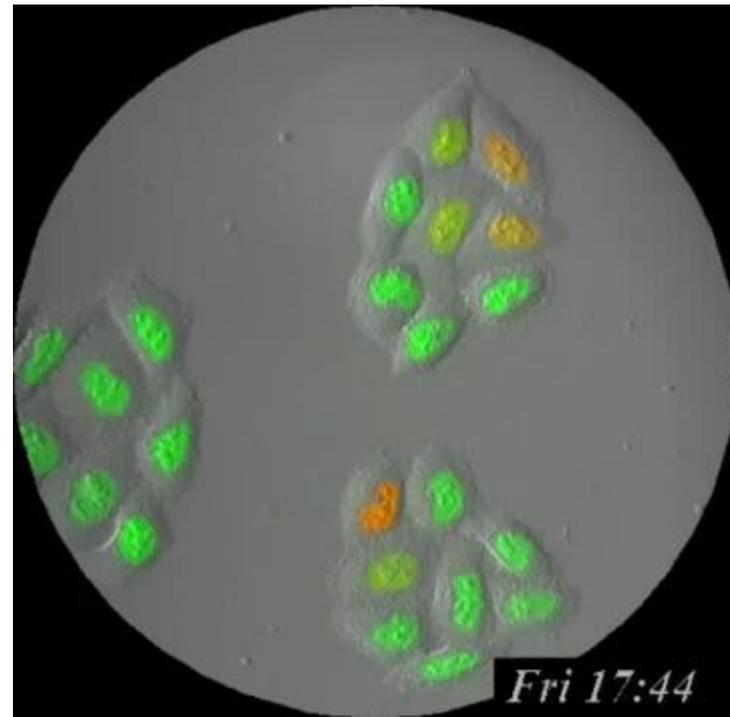
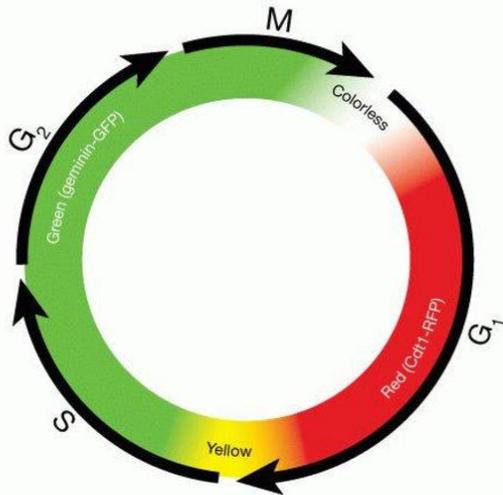


Подсчет клеток на разных стадиях КЦ

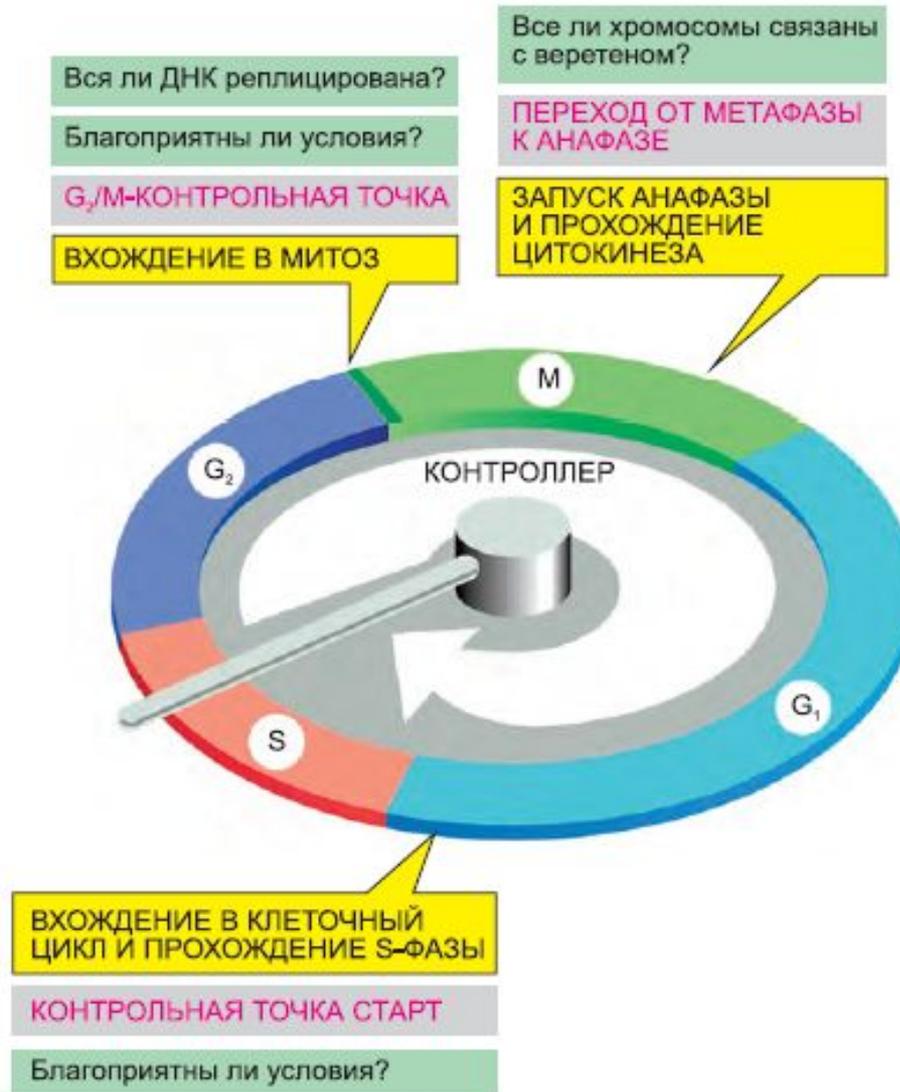
Флуоресцентное мечение белков-регуляторов клеточного цикла

Красный – Cdt1 (G1)

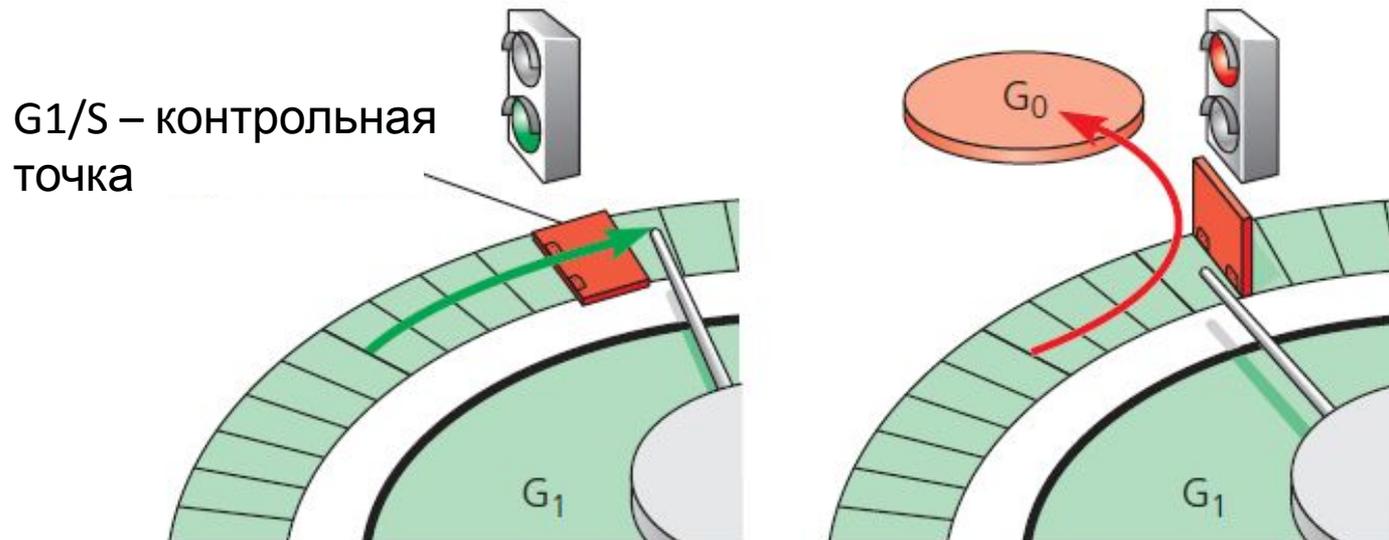
Зеленый – Geminin (S,



Клетка регулирует прохождение по клеточному циклу

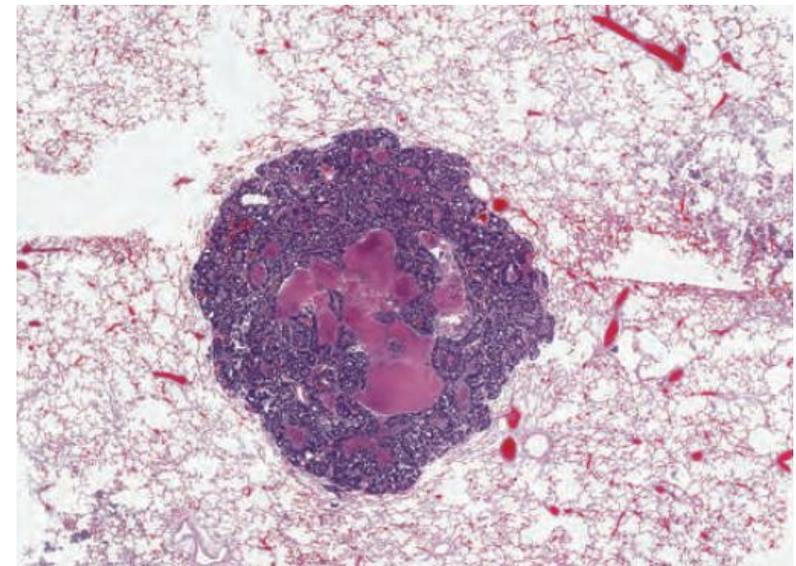
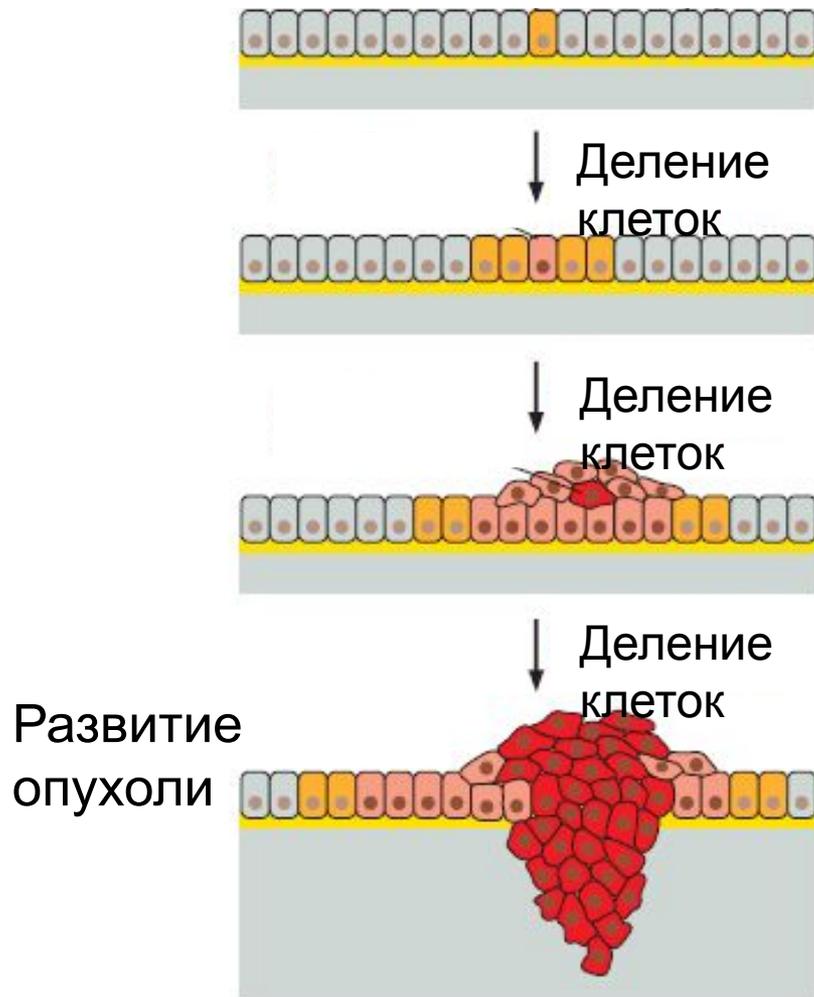


G_0 : состояние неделящихся клеток



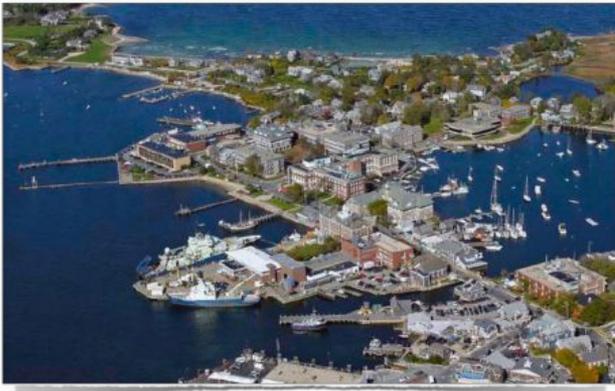
Если клетка не проходит контрольную точку $G1/S$, она уходит в фазу G_0

Нарушение контроля клеточного цикла ведет к опухолям

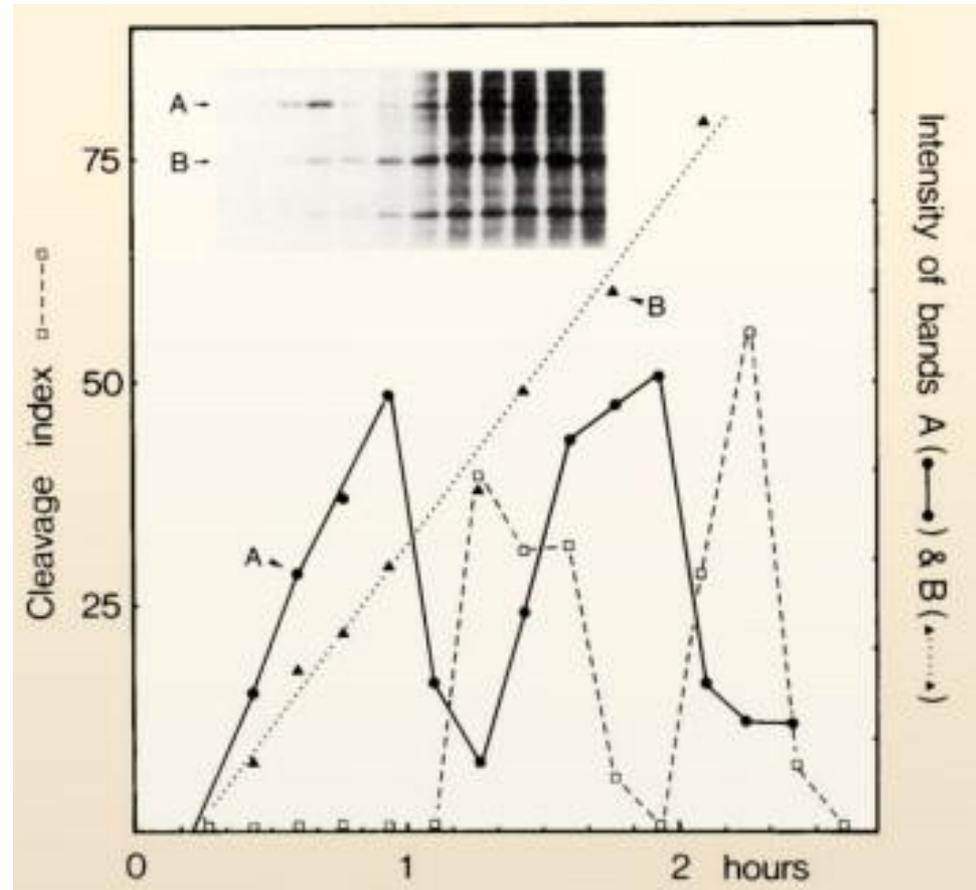


Метастазирование – миграция опухолевых клеток по организму

Белки циклина – регуляторы клеточного цикла



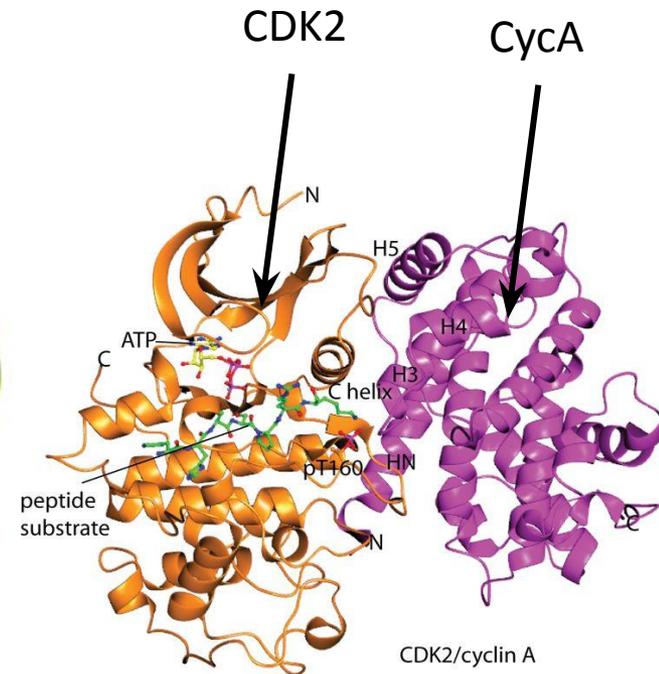
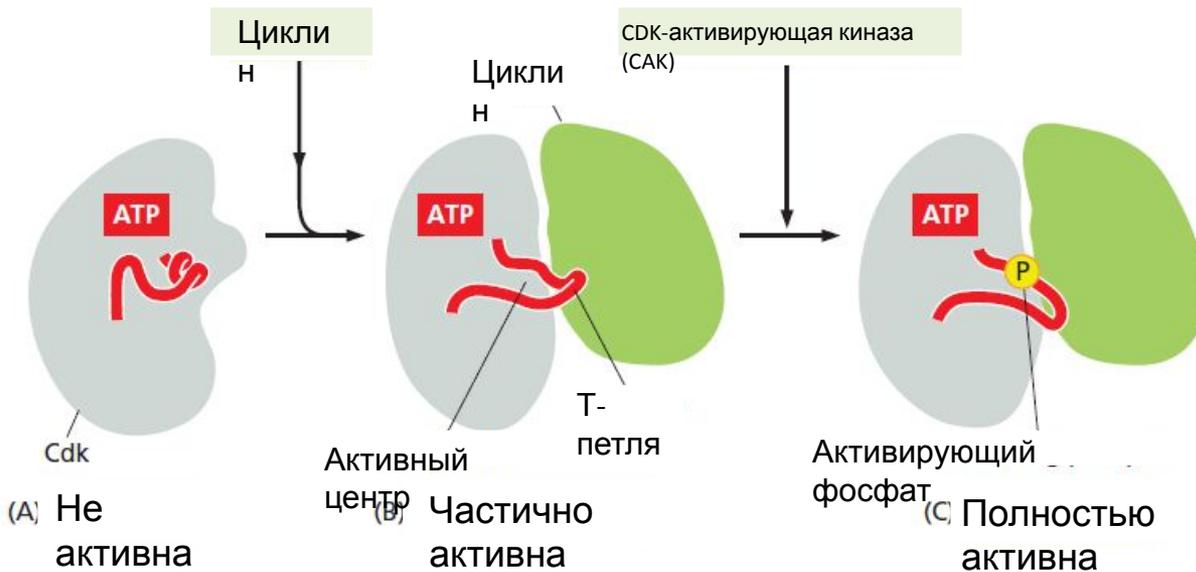
MBL



Тим Хант, 1983 – открытие циклина
(дробление яйцеклетки морского ежа)

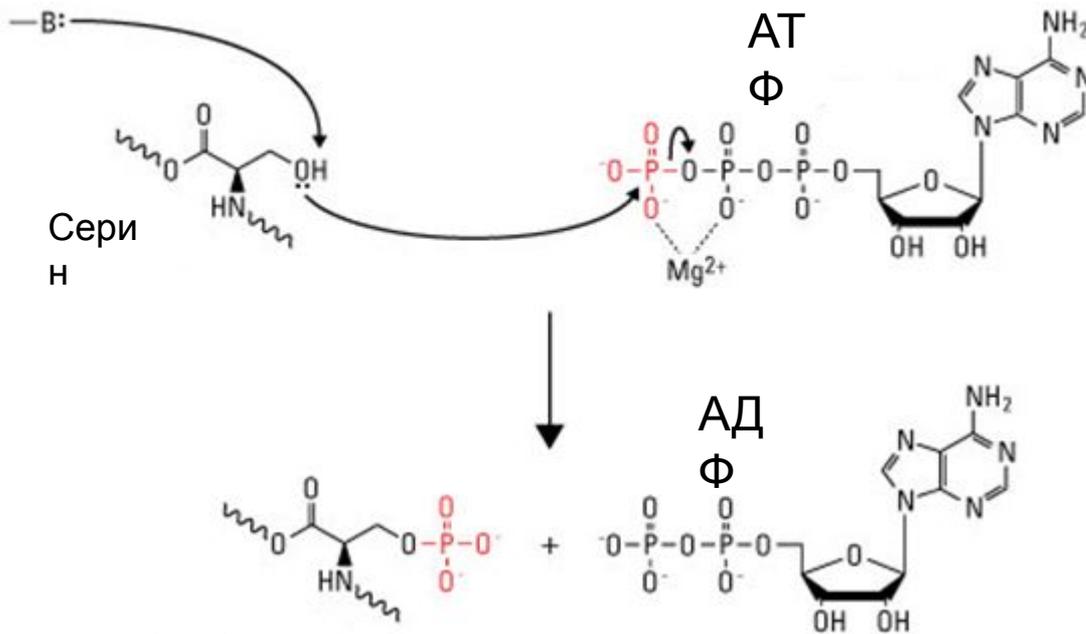
Циклин образует комплекс с циклин-зависимой киназой (CDK)

CDK активируется при связывании циклина



CDK – cyclin-dependent kinase

Киназы осуществляют фосфорилирование



Фосфорилирование –
регуляция активности белков

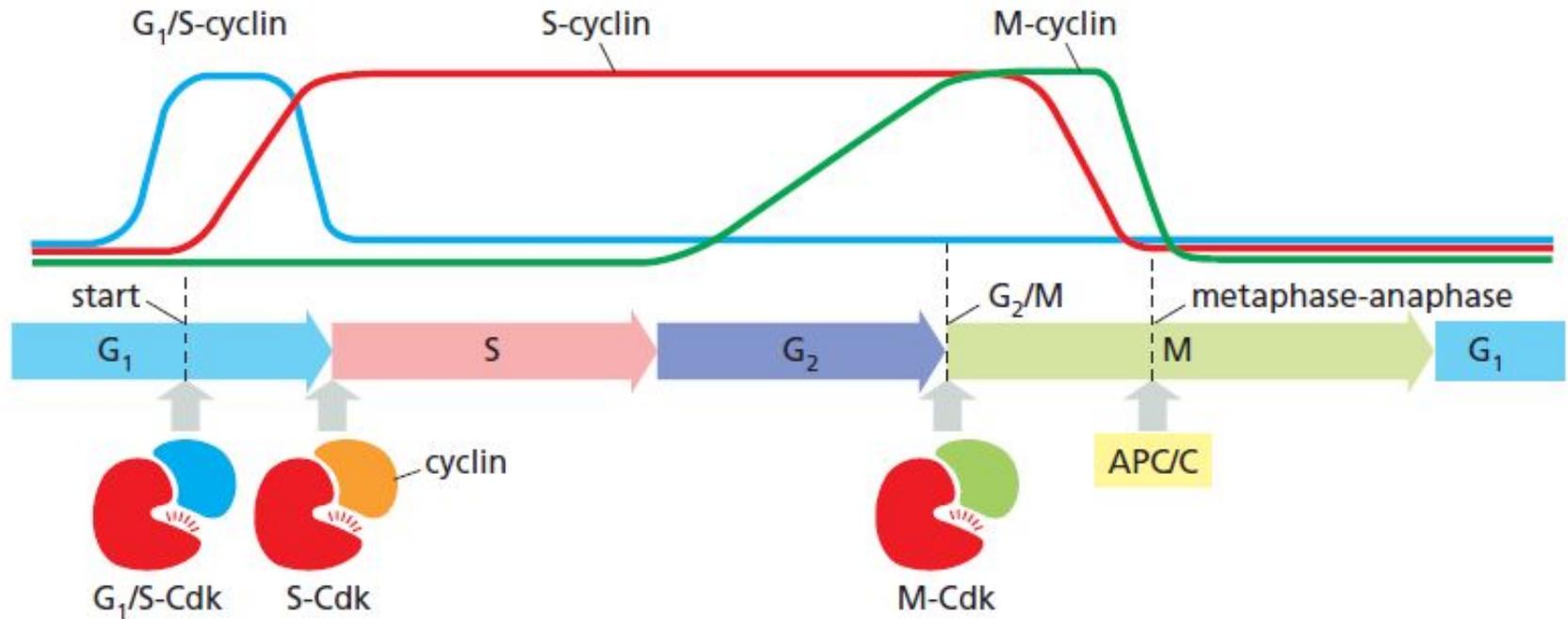
Фосфосери
н

CDK – серин/треониновые
киназы

Циклины и CDK регулируют клеточный цикл

Различные циклины и CDK's активны на разных стадиях клеточного цикла

Активность CDK необходима для смены фаз клеточного цикла

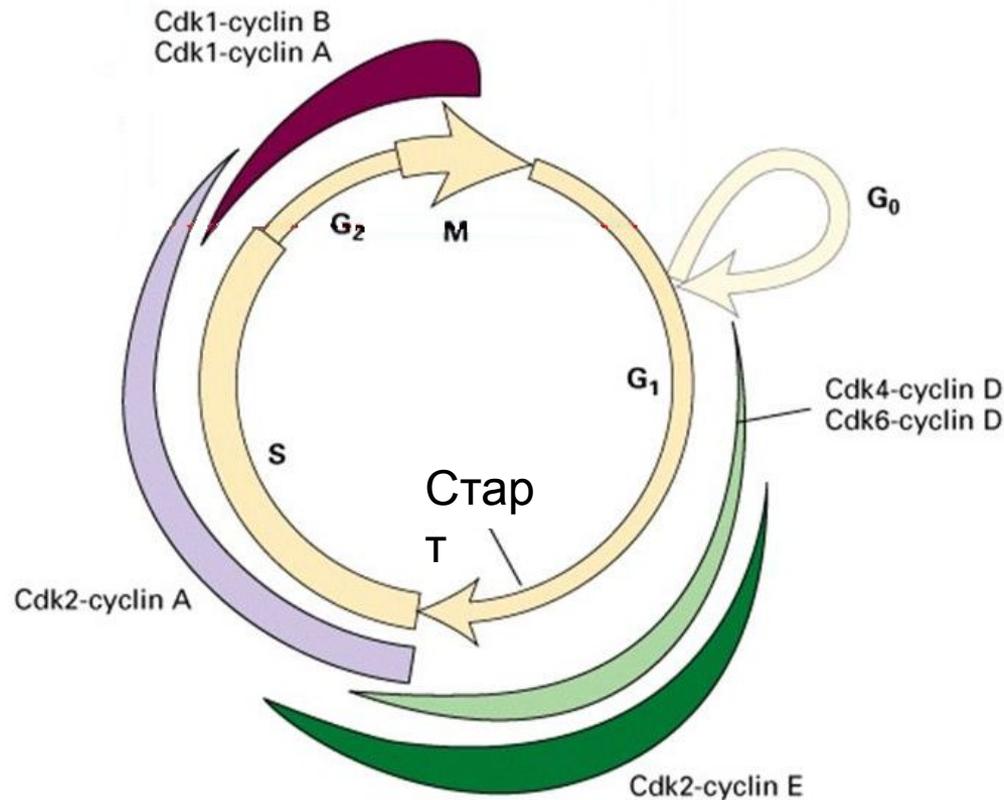


Циклины и Cdk регулируют клеточный цикл

В клетках
человека:

Фаза клеточного цикла	Циклин	CDK
G1	D1, D2, D3	CDK4, CDK6
G1/S	E	CDK2
S	A	CDK2
G2/M	B	CDK1

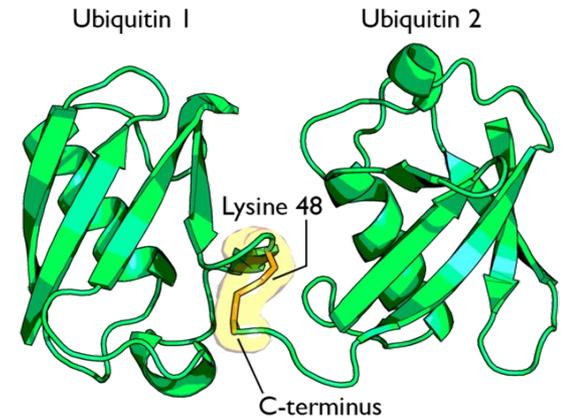
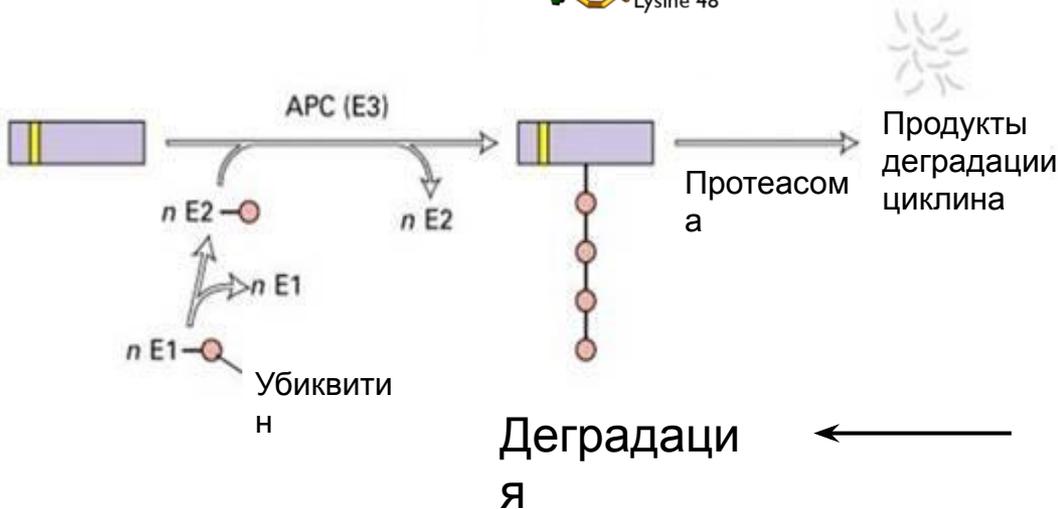
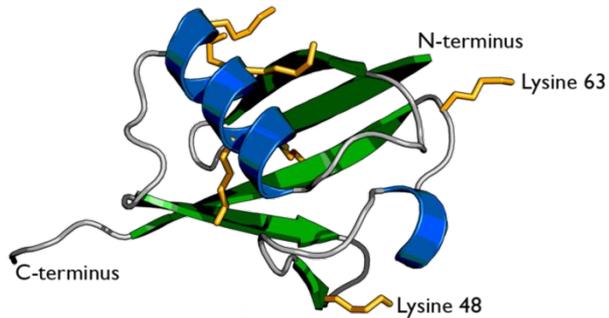
Концентрация циклинов меняется по ходу клеточного цикла



Концентрация CDK остается (относительно) постоянной

Убиквити(ли)рование циклинов

Циклины разрушаются по пути убиквитин-зависимой деградации



Полиубиквитинирование через
K48

Убиквити(ли)рование циклинов

Убиквитин присоединяется убиквитин-лигазами

E1 – убиквитин-активирующий фермент

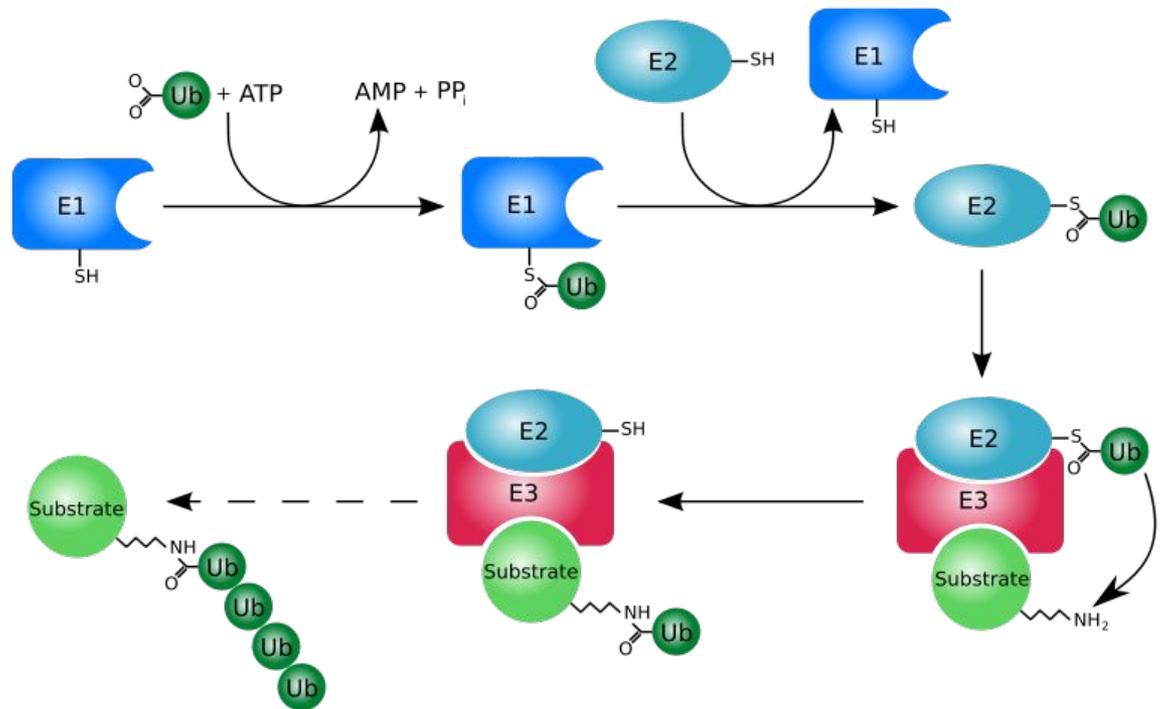
E2 – убиквитин – конъюгирующий

фермент

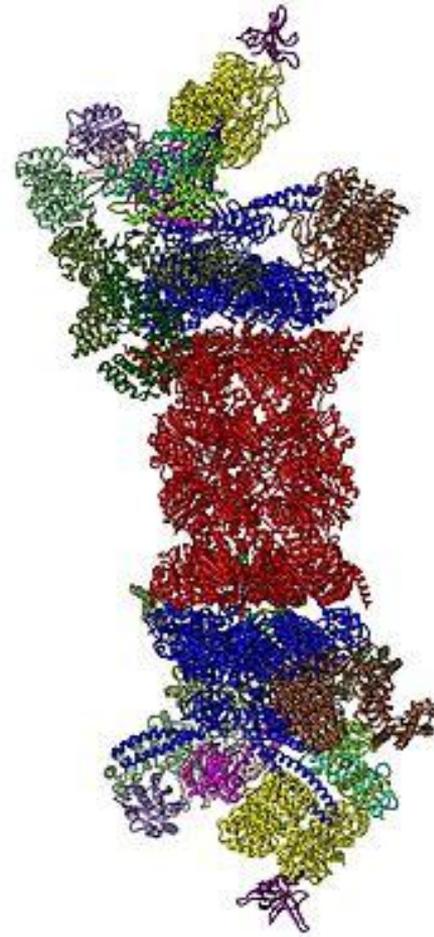
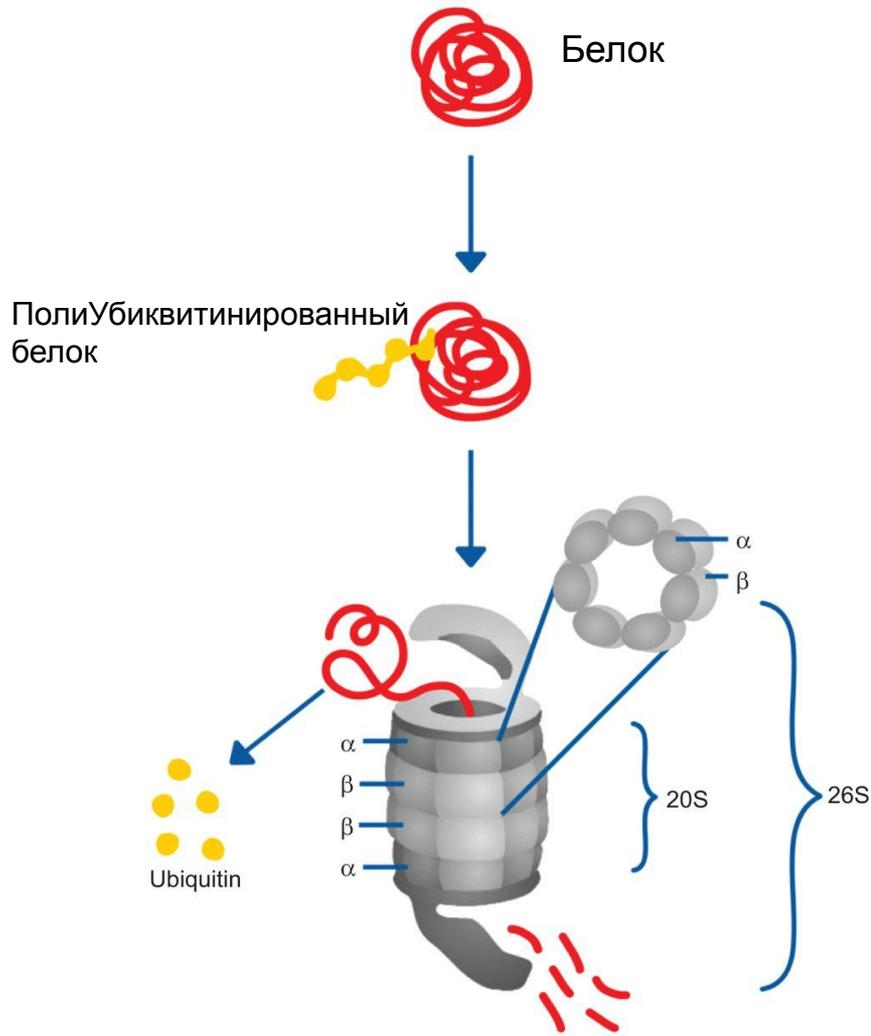
E3 – убиквитин-лигаза



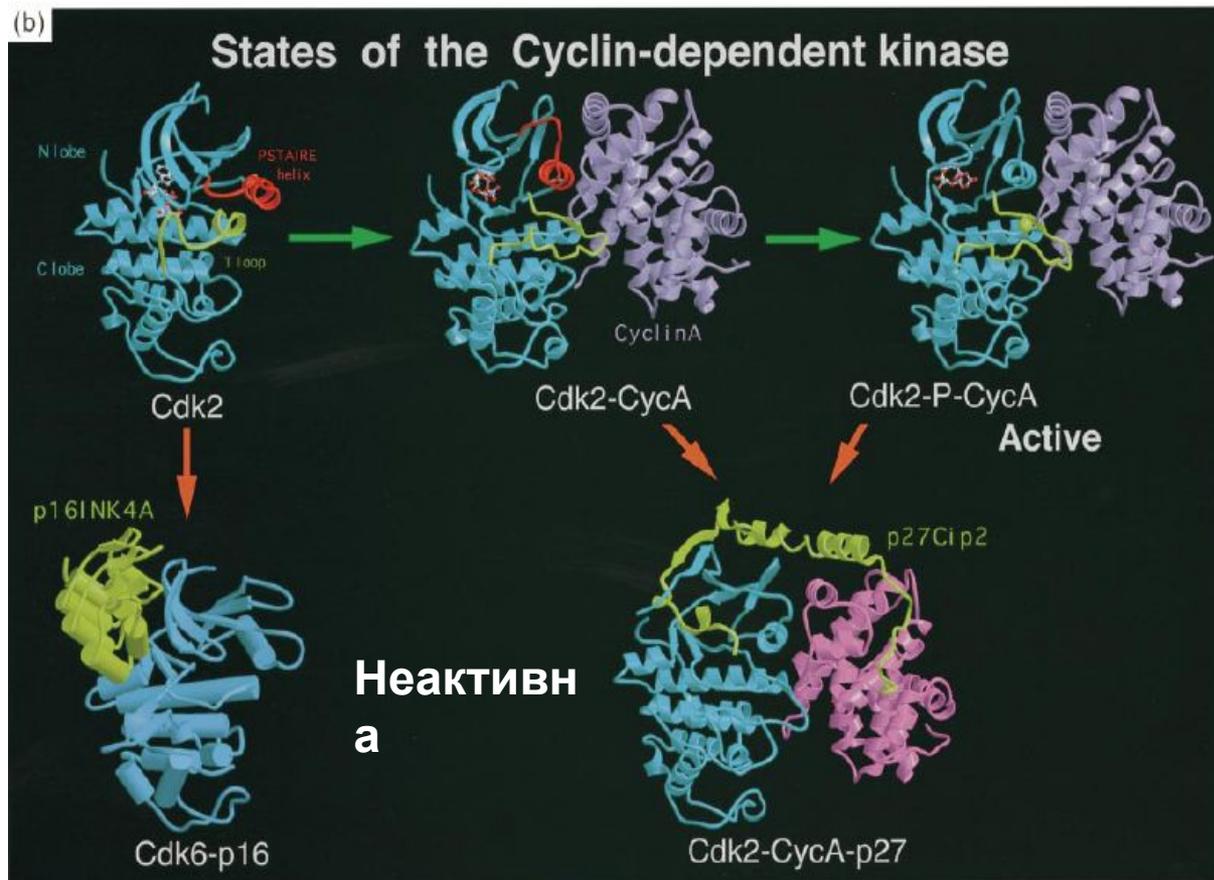
«Черная метка»



Протеасома – белковая мясорубка



Обратимое ингибирование циклинов и CDK

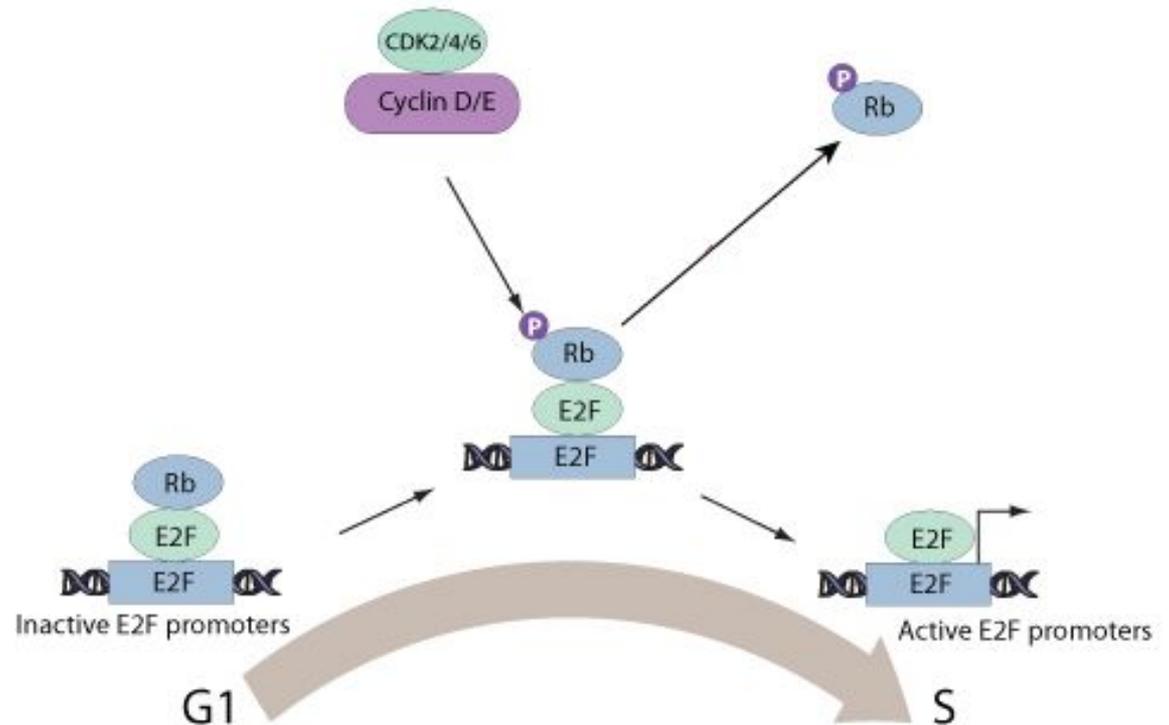


Связывание
CDK

Связывание комплекса CDK-
циклин

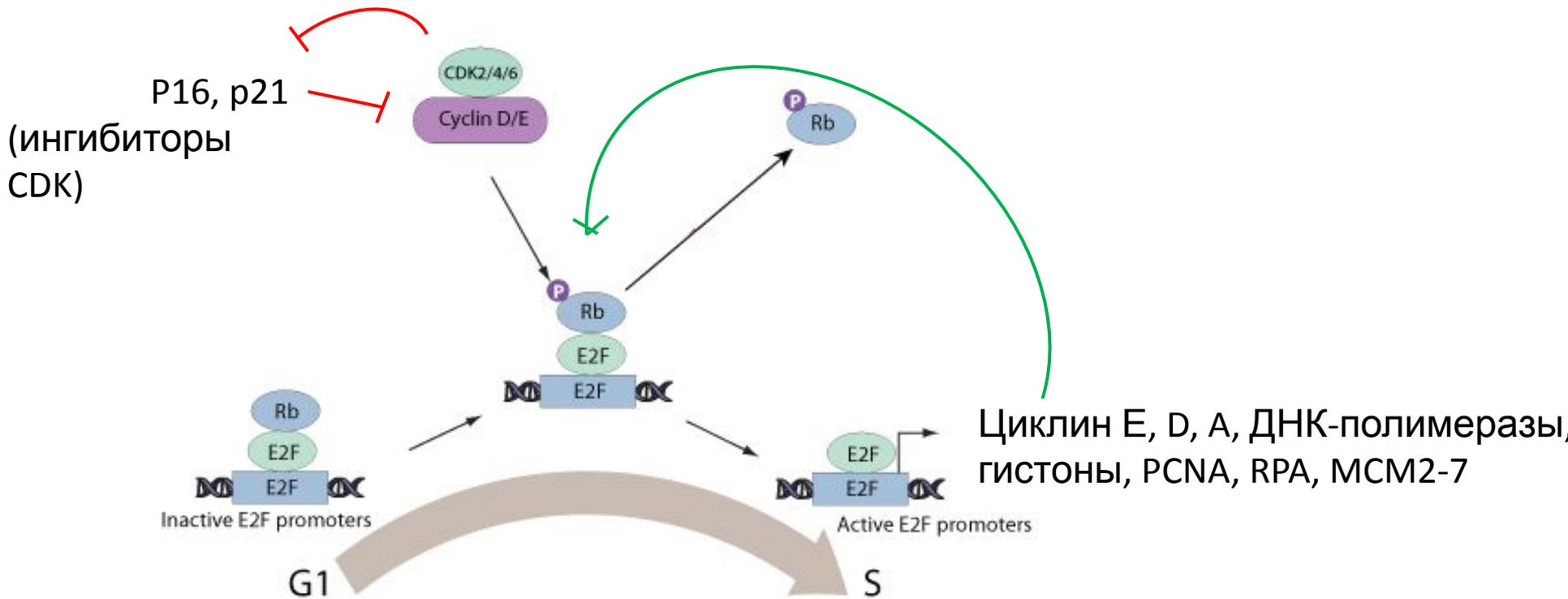
Переход G1/S («Старт» клеточного цикла)

После старта клеточный цикл должен закончиться делением.. или гибелью клетки

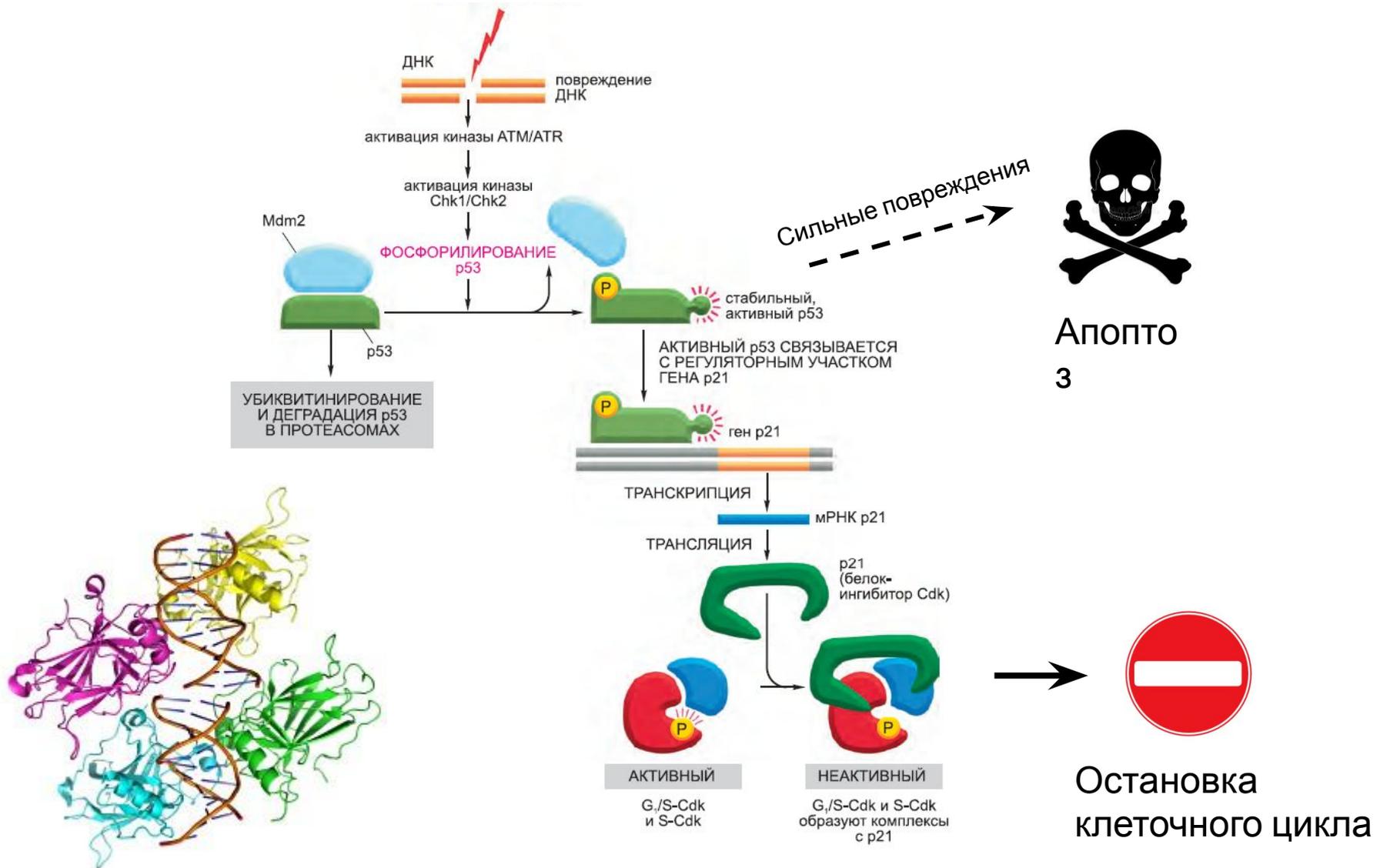


Белок Rb ингибирует транскрипционные факторы E2F

Переход G1/S («Старт» клеточного цикла)



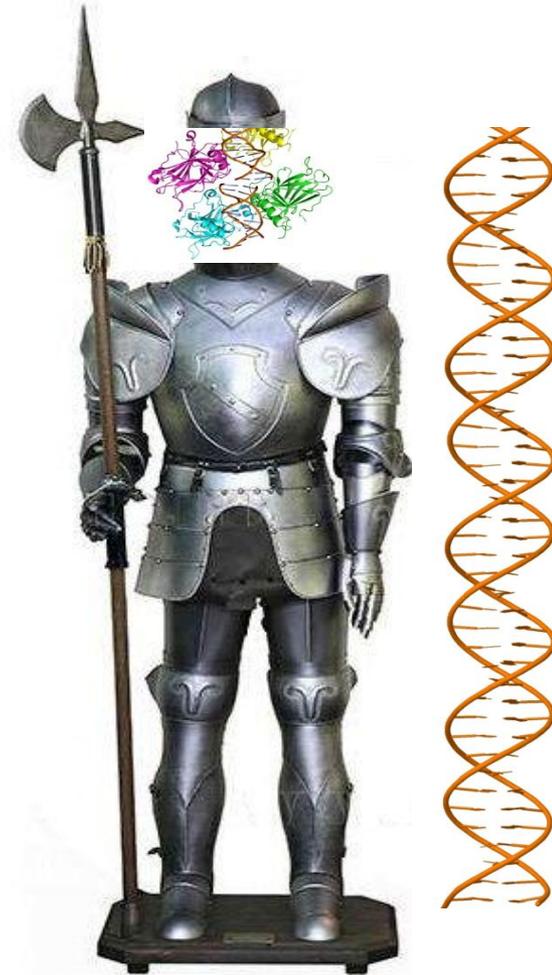
p53 – регулятор клеточного цикла



p53: на страже генома

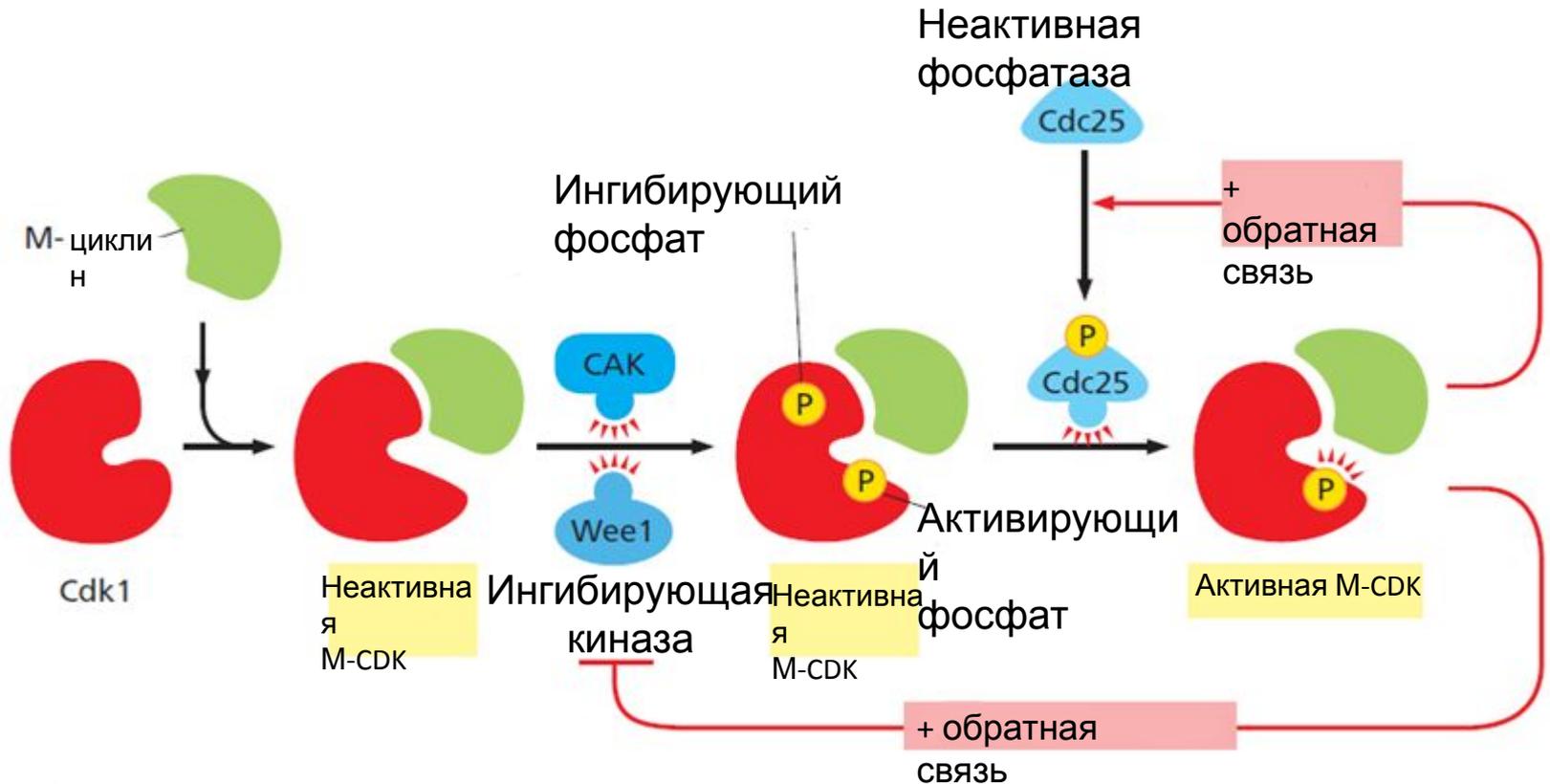
p53 – это
онкосупрессор.

В 50% опухолей ген p53 содержит
мутации



Переход к митозу

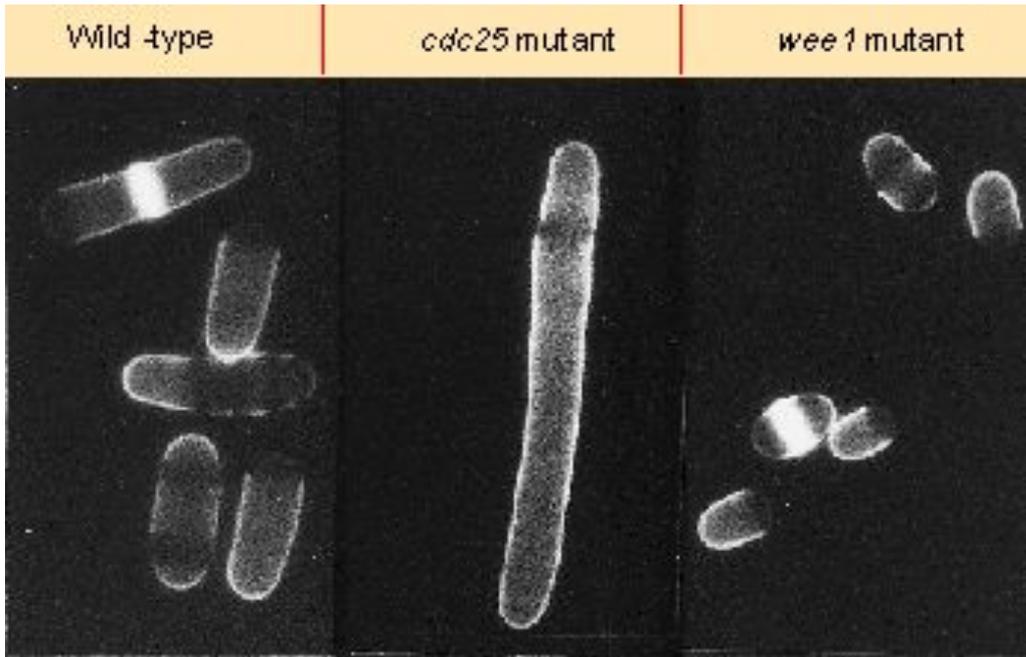
Киназа WEE ингибирует CDK1, а фосфатаза CDC25 - активирует



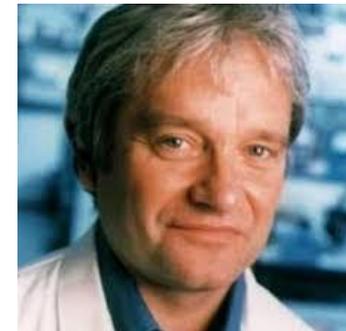
Cdc – cell division cycle

Переход к митозу

Исследование деления дрожжей привело к открытию механизмов контроля клеточного цикла



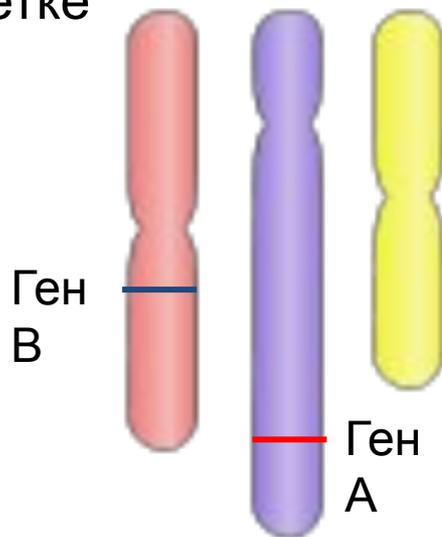
Леланд
Хартвелл



Пол
Нёрс

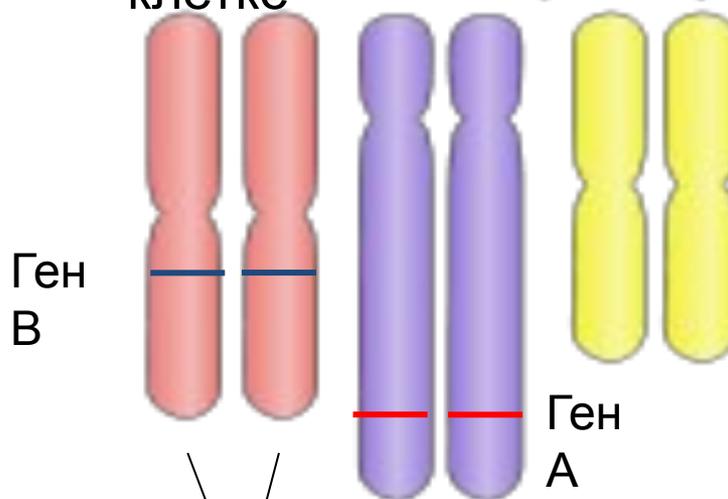
Плоидность – количество одинаковых наборов хромосом в клетке

Хромосомы в гаплоидной клетке



n

Хромосомы в диплоидной клетке

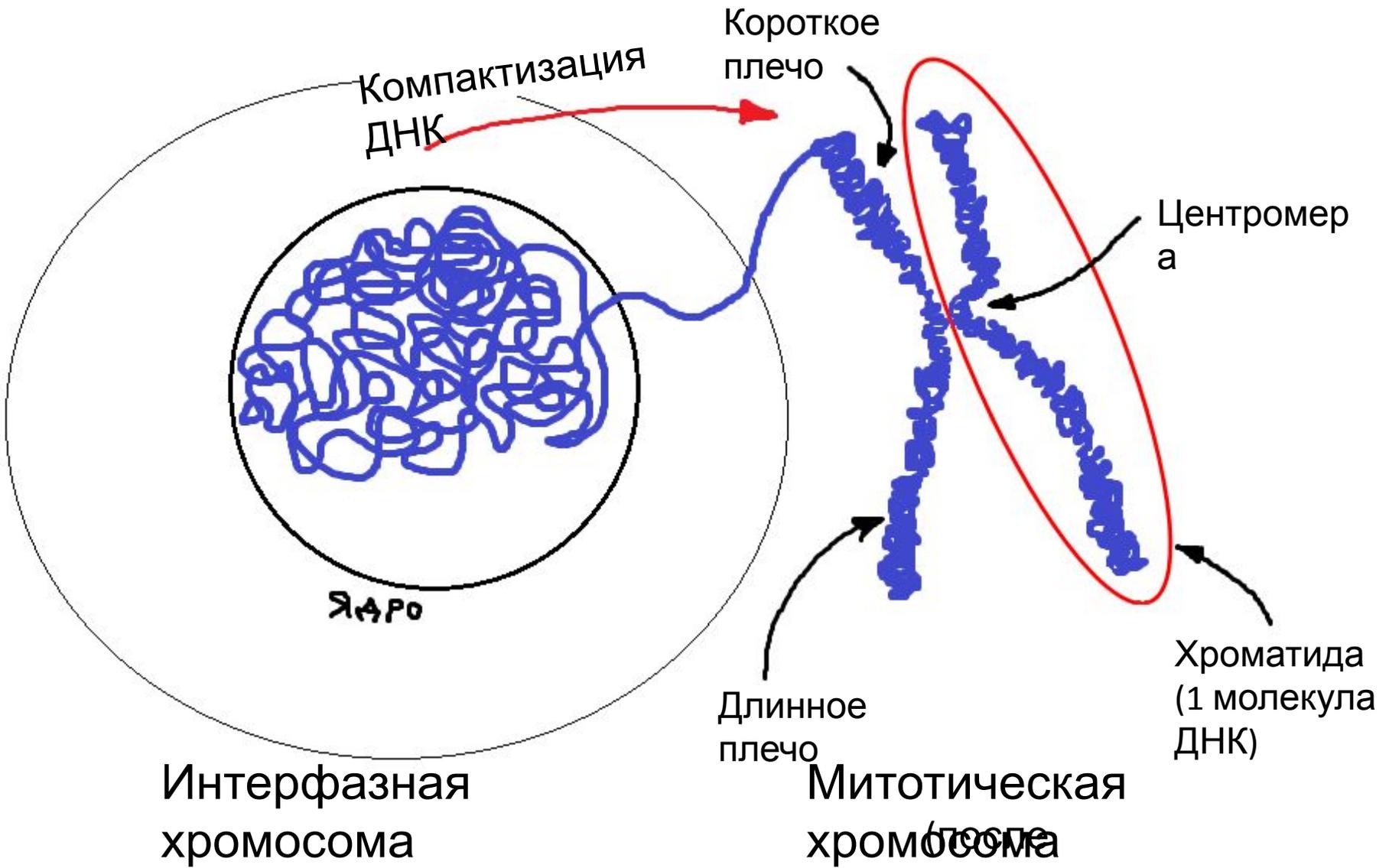


Гомологичны
е
хромосомы

$2n$

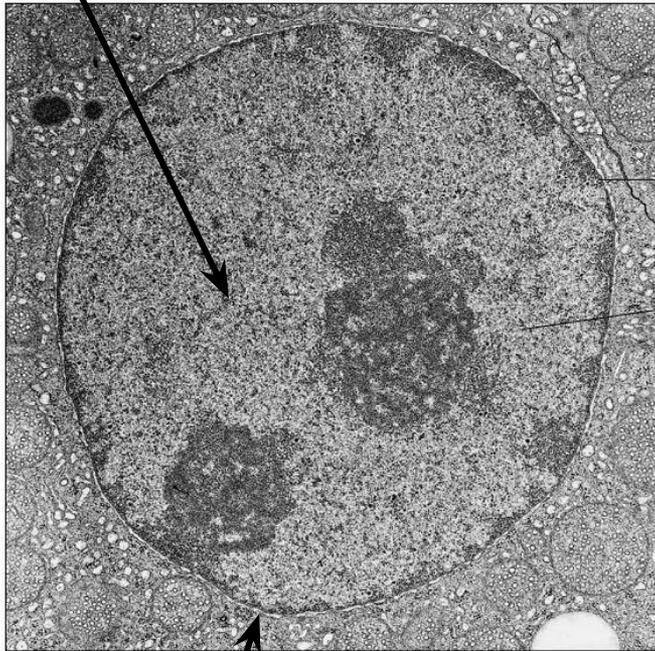
По две копии каждого гена

Строение хромосомы



Строение хромосомы

Хроматин в
интерфазе

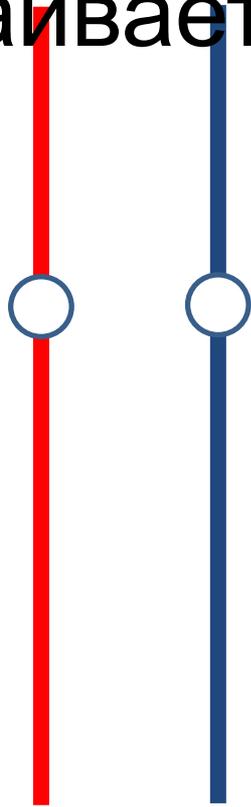


Ядр
о



Хромосомы в
митозе

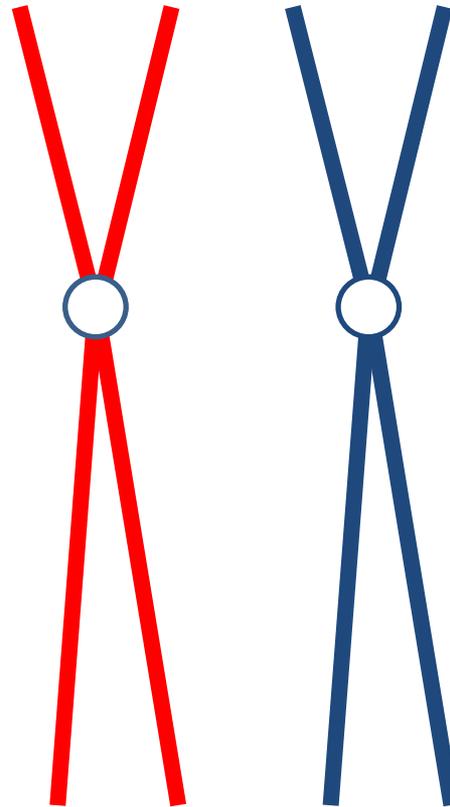
При репликации хромосома удваивается



Гомологичные
хромосомы

G1
фаза

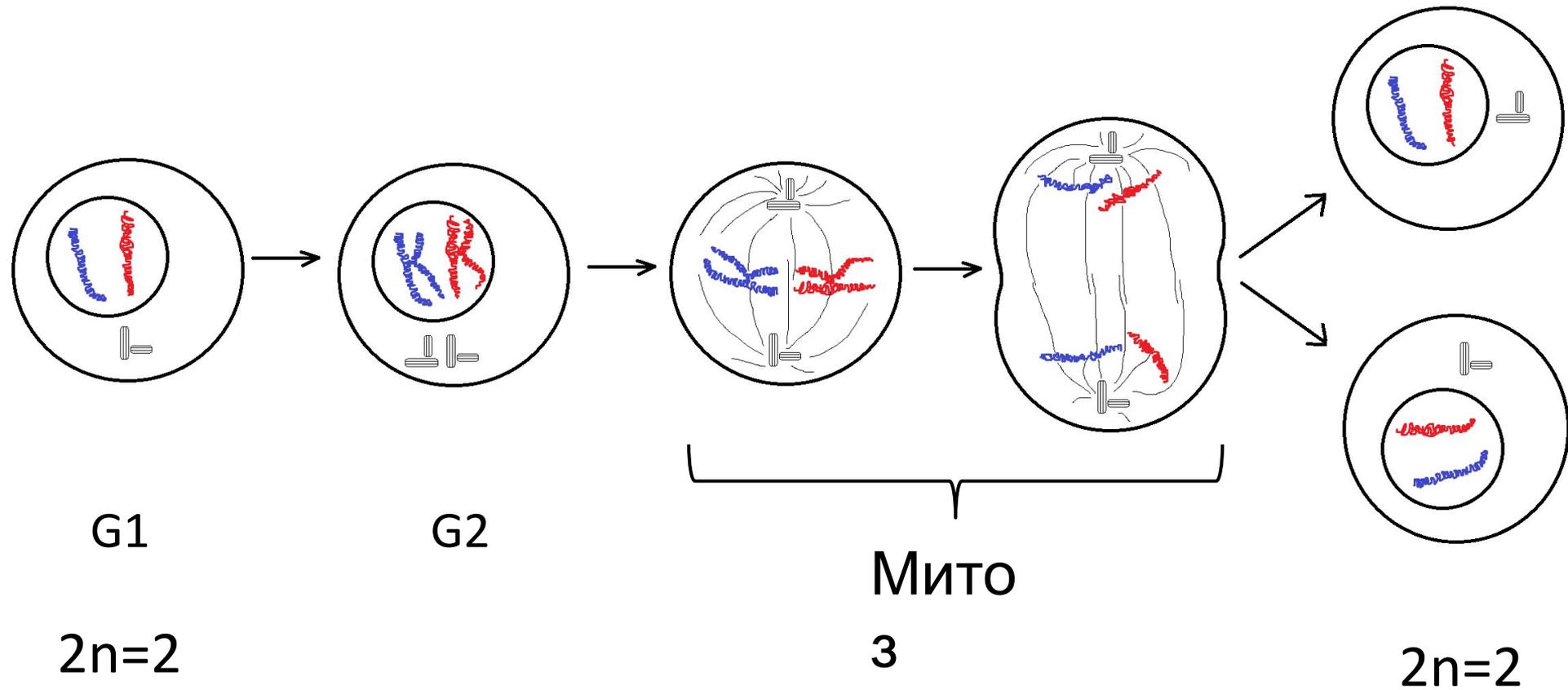
Репликация
→
S-фаза



Хроматиды

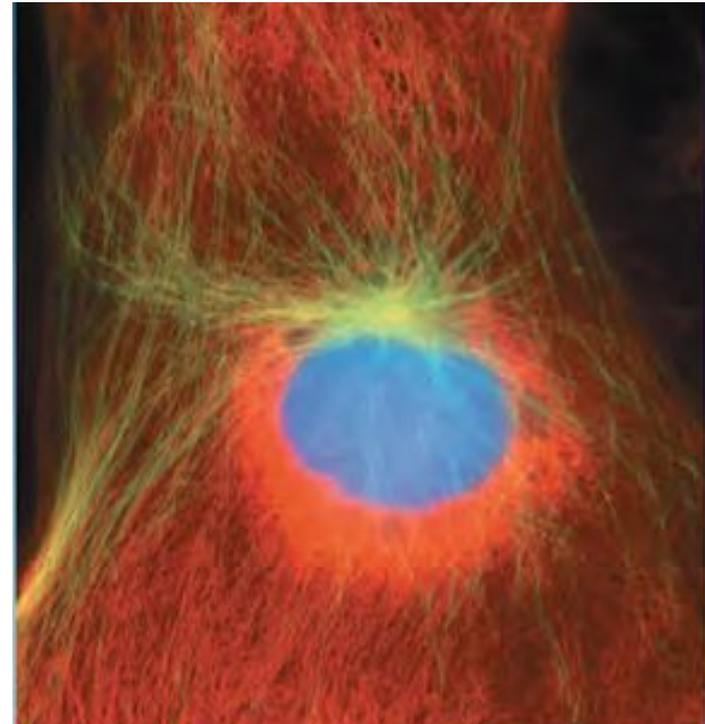
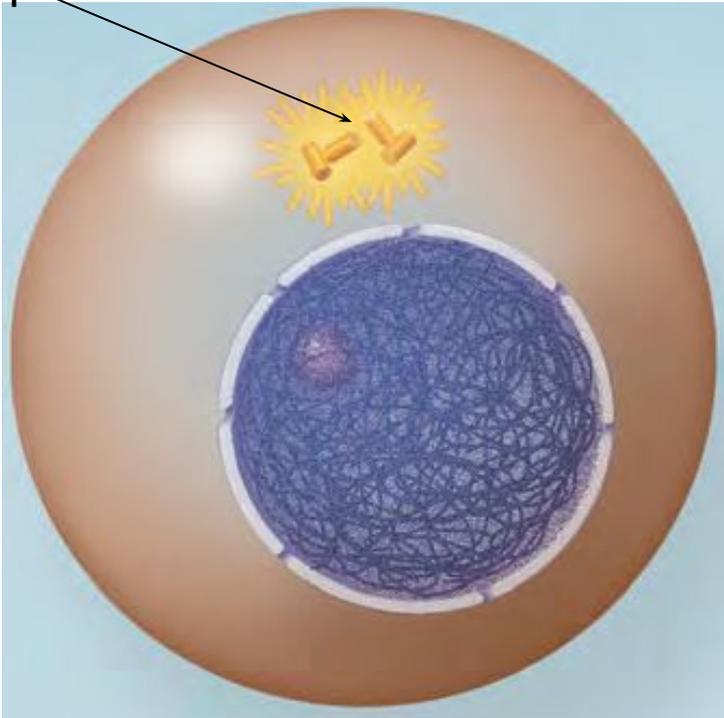
G2
фаза

Митоз – деление клеточного ядра с сохранением ploидности



G2: клетка готовится к митозу

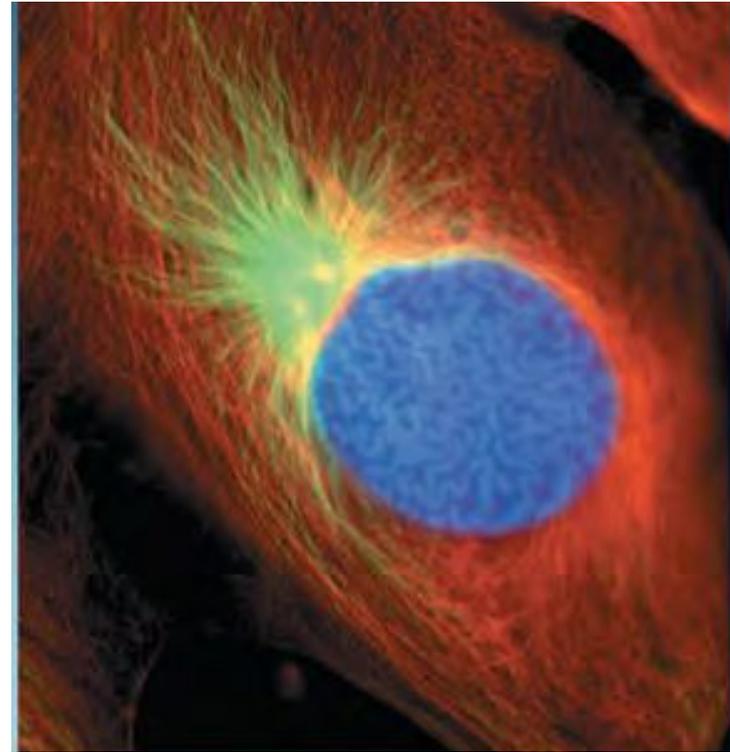
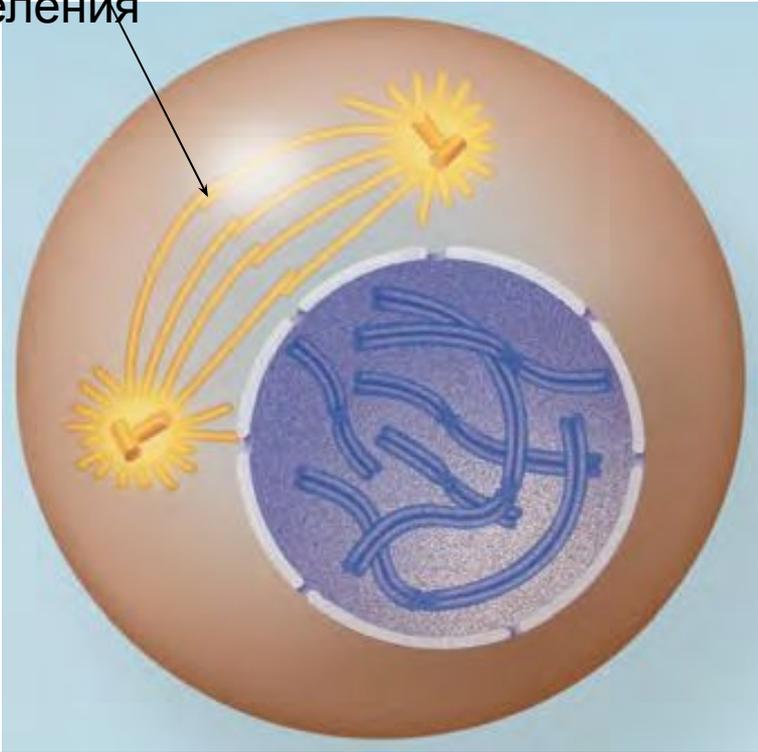
Удвоенные
центриоли



- Центриоли **уже** удвоены
- ДНК **еще не** конденсирована (хромосомы не видны)
- Увеличение количества митохондрий и других органелл

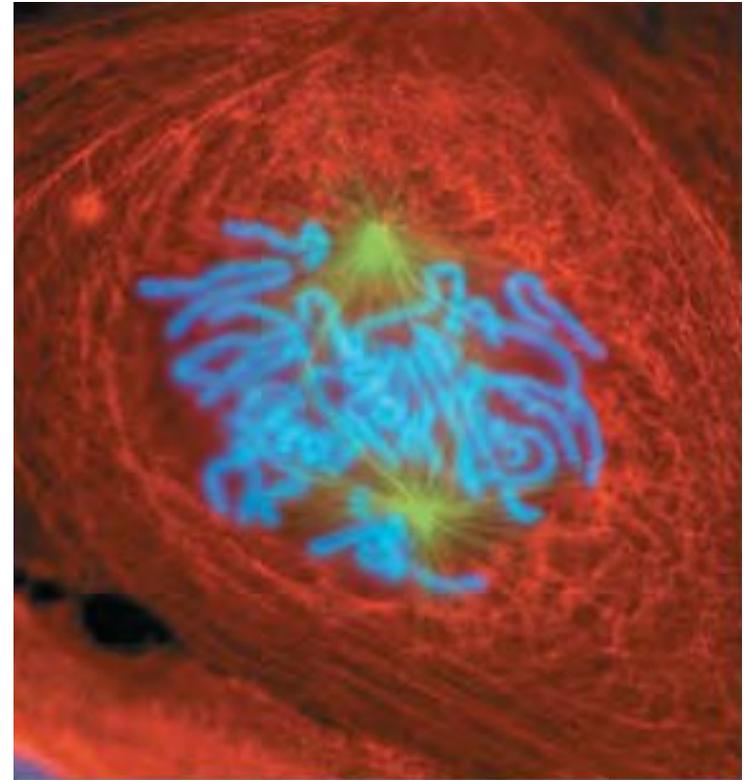
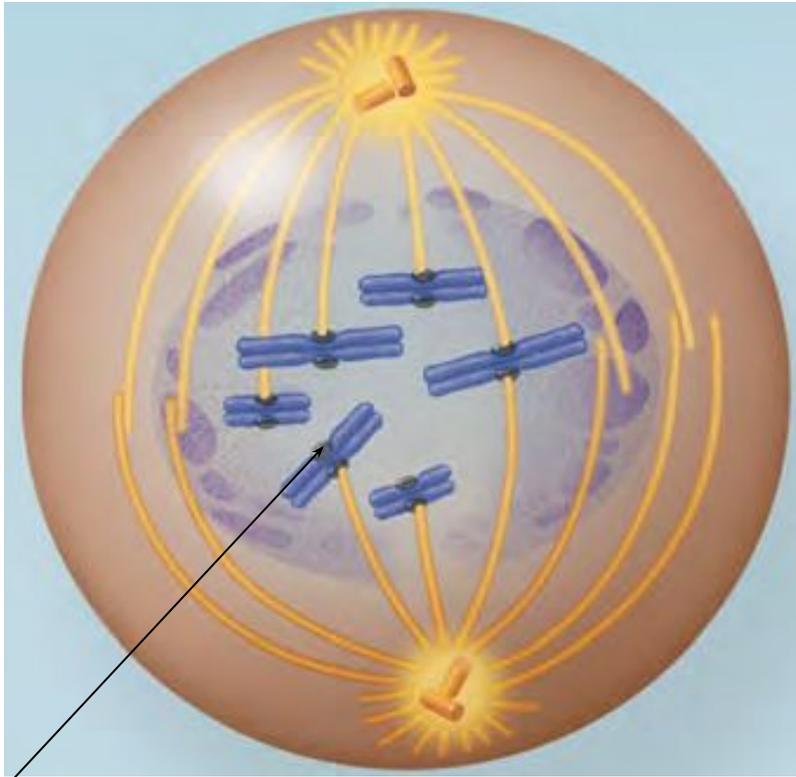
Фазы митоза: профаза

Веретено
деления



- Формируется **веретено деления**
- ДНК **конденсирована** (хромосомы видны)
- Ядрышко исчезло

Фазы митоза: прометафаза

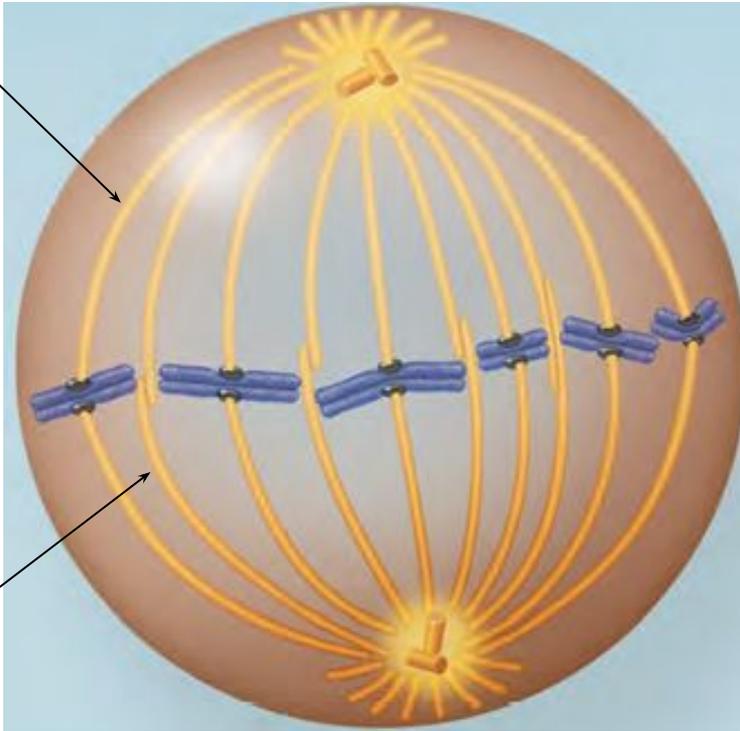


кинетохор

- Исчезает ядерная мембрана
- Центриоли достигают полюсов
- ДНК **конденсирована** еще сильнее
- Микротрубочки присоединяются к **кинетохорам**
- Хромосомы начинают двигаться

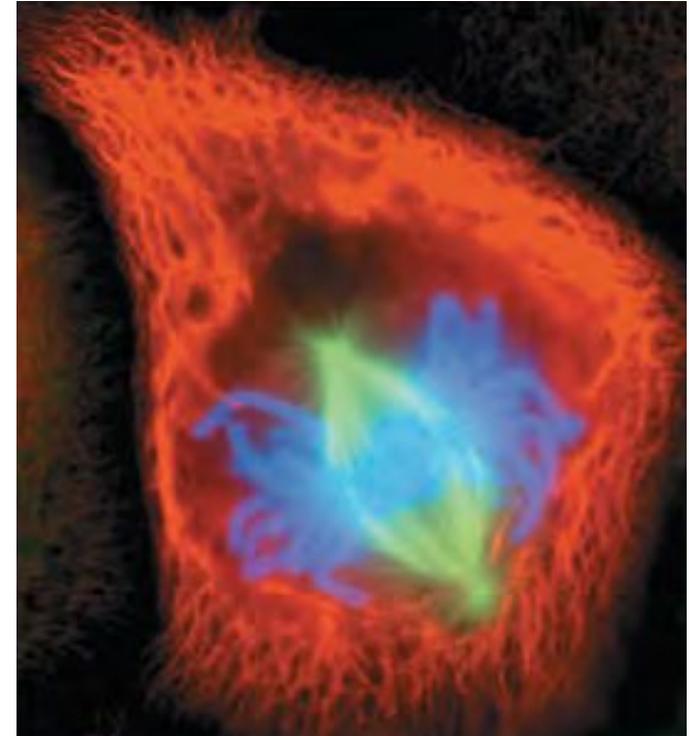
Фазы митоза: метафаза

Кинетохорные
МТ



Метафаза
я
пластинка

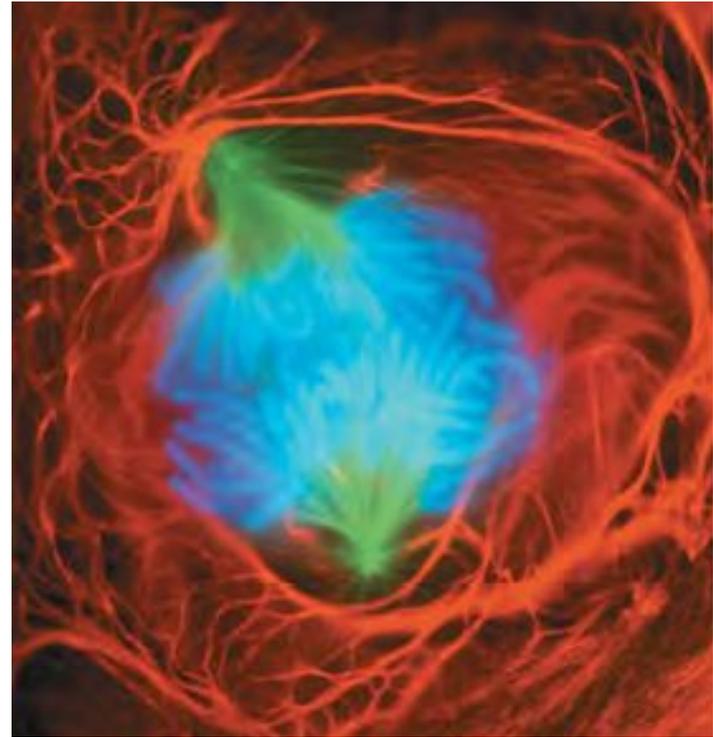
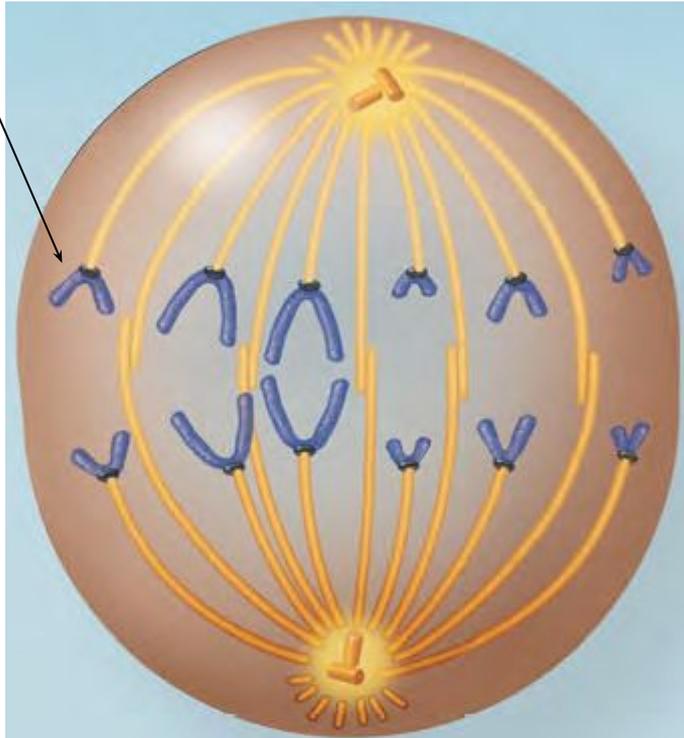
Межполюсные
МТ



- Хромосомы выстраиваются по экватору клетки (метафазная пластинка)
- К каждой центромере присоединены пучки микротрубочек от обоих полюсов

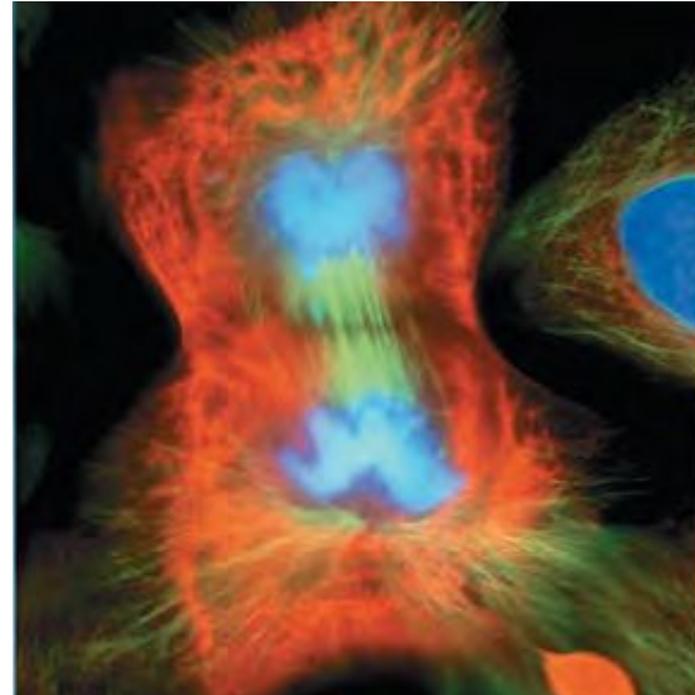
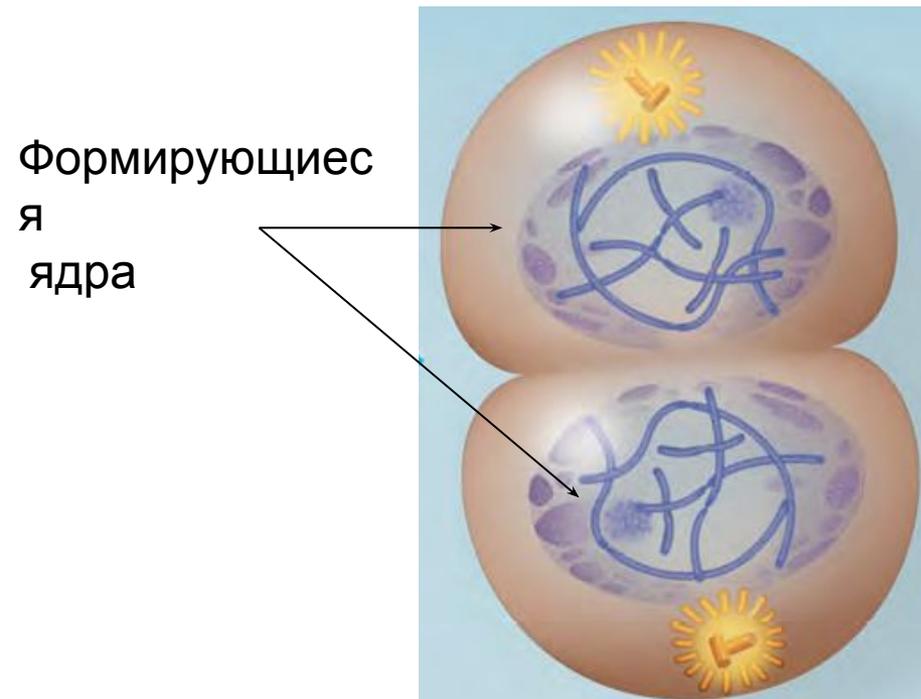
Фазы митоза: анафаза

Хроматид
а



- Анафаза А: **Хроматиды** расходятся к противоположным полюсам
- Анафаза В: Клетка удлинняется

Фазы митоза: телофаза и цитокинез



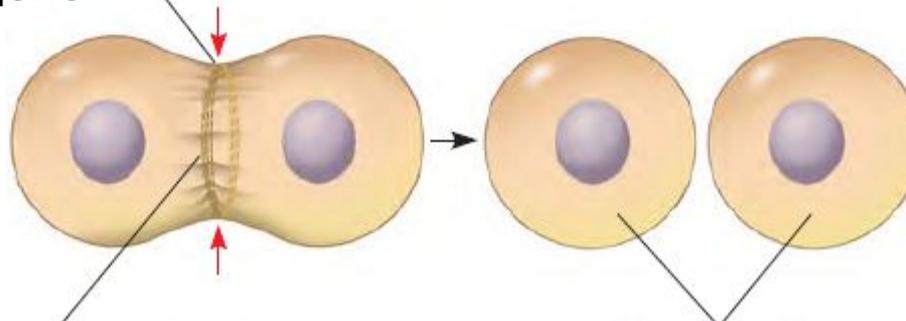
- Ядерная оболочка восстанавливается
 - Ядрышко восстанавливается
 - Веретено деления разбирается
 - Хромосомы деконденсируются
- Цитокинез – деление цитоплазмы**

При цитокинезе животной клетки образуется борозда деления



100 μm

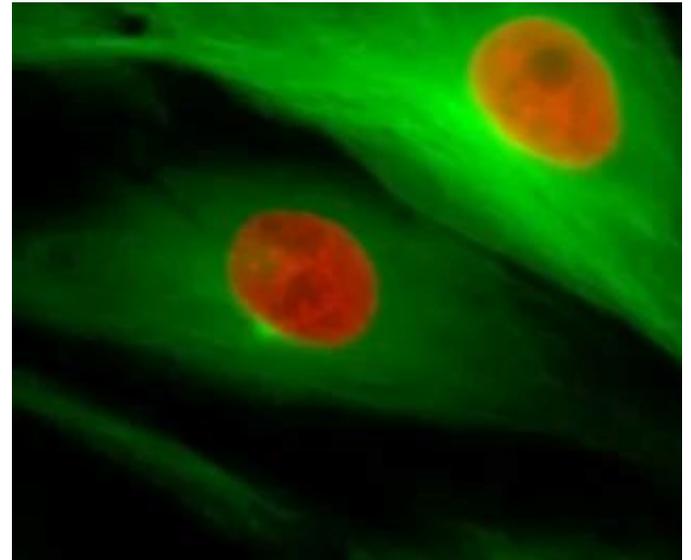
Борозда
деления



Сократимое кольцо
(актин)

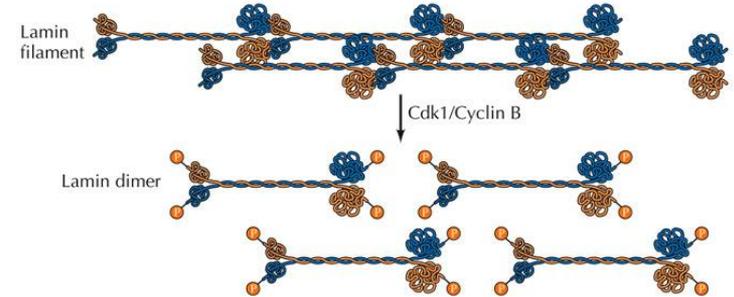
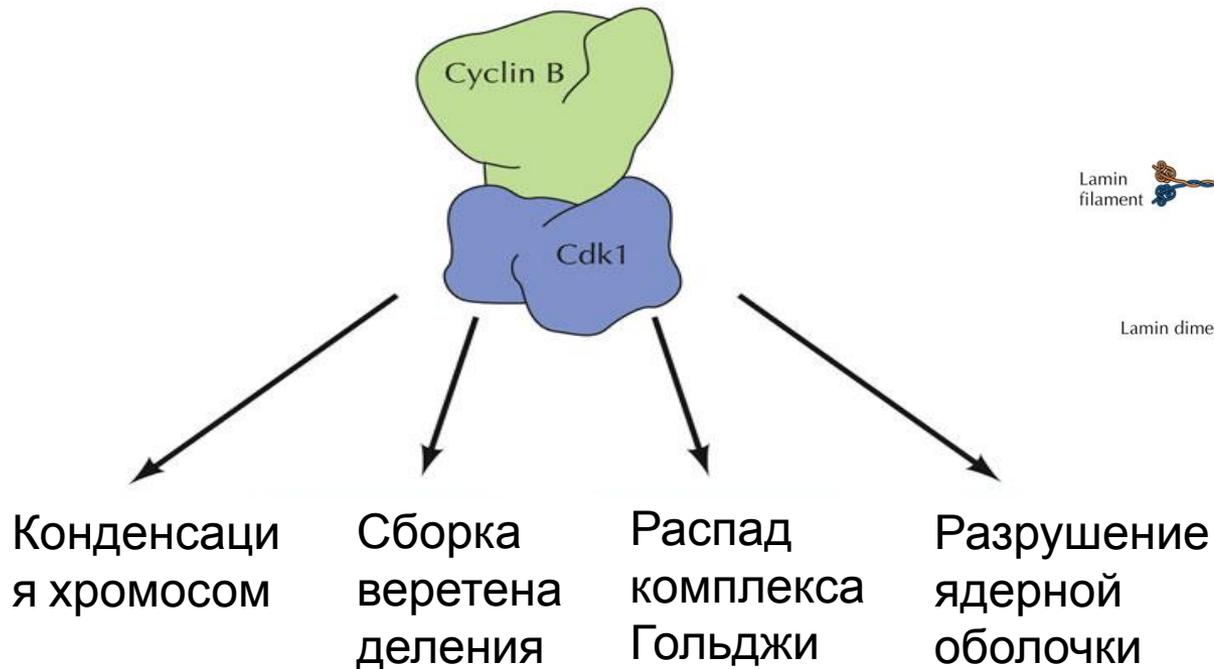
Дочерние
клетки

МИТОЗ: time-lapse



Запуск митоза: циклин В/CDK1

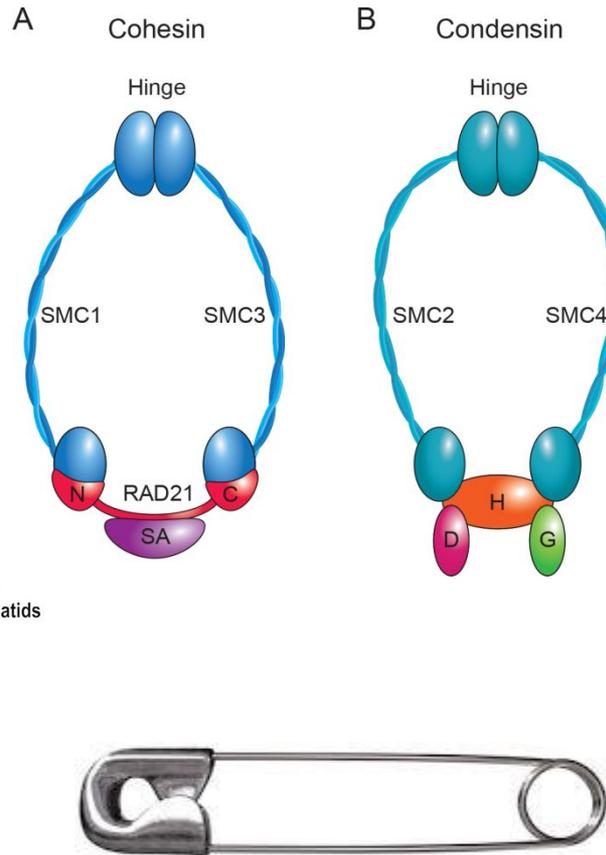
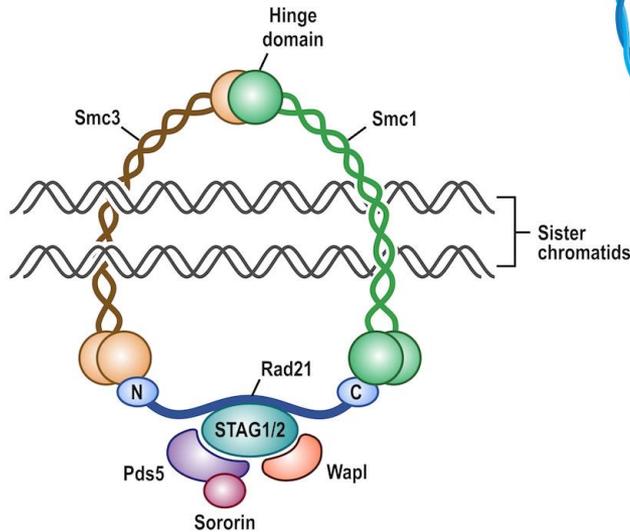
Киназа CDK1 вместе с циклином В фосфорилирует различные белки



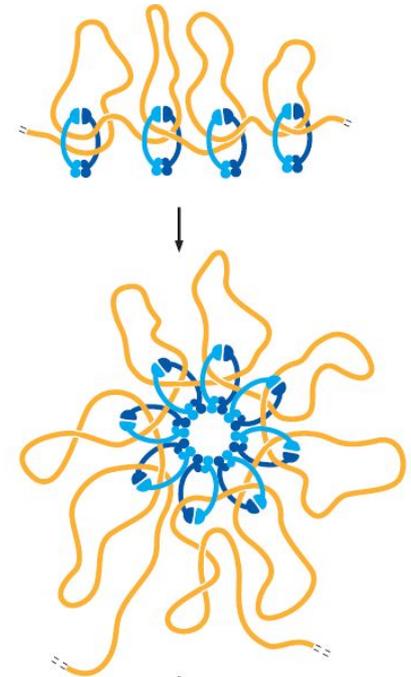
Конденсины и когезины

Представители SMC- белков (Structural maintenance of chromosomes)

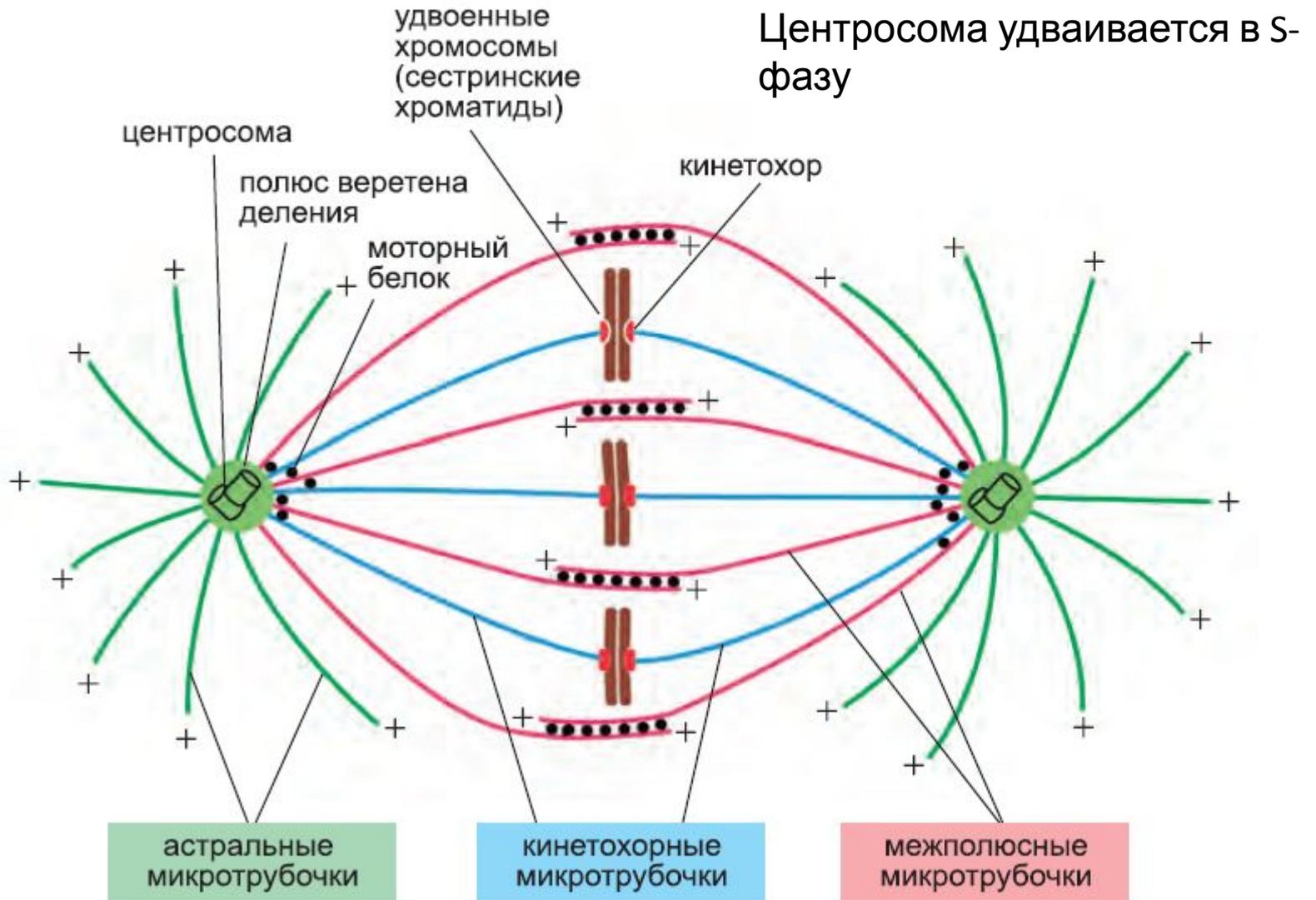
Когезины – удержание сестринских хроматид вместе



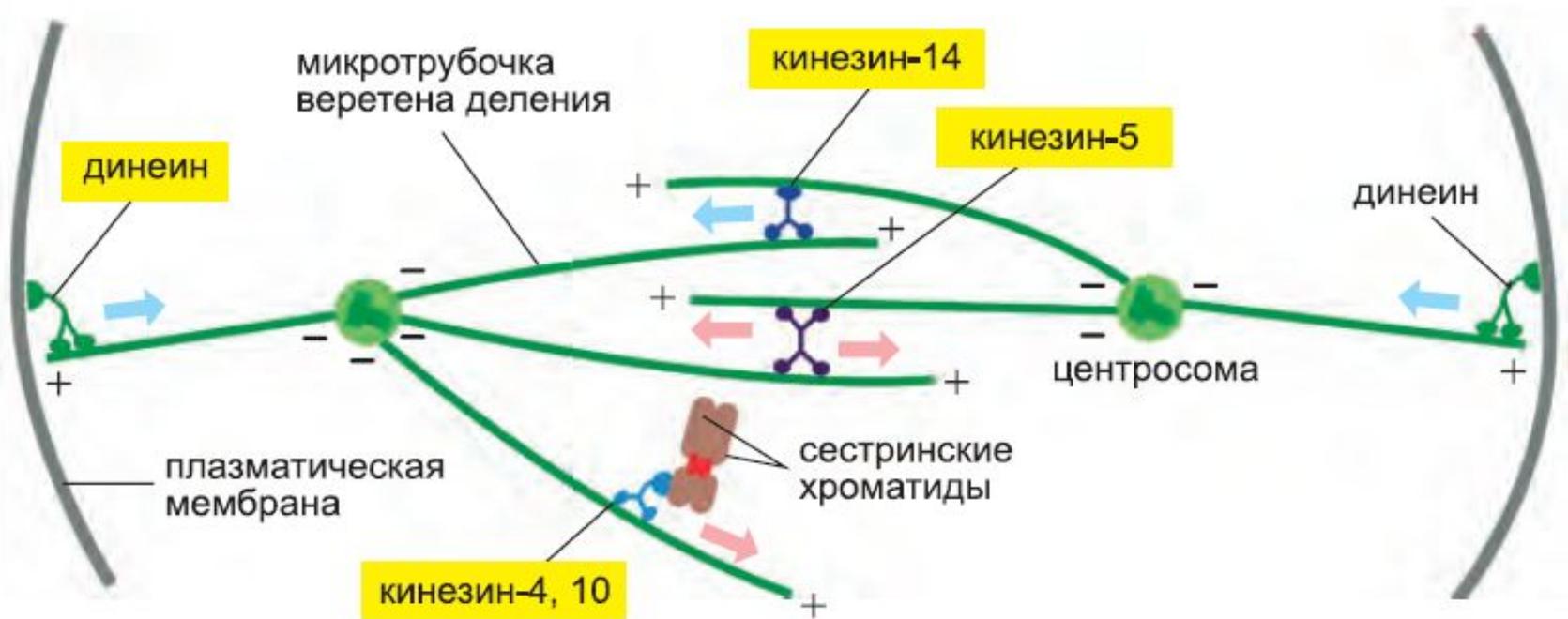
Конденсины – конденсация хромосом



Веретено деления

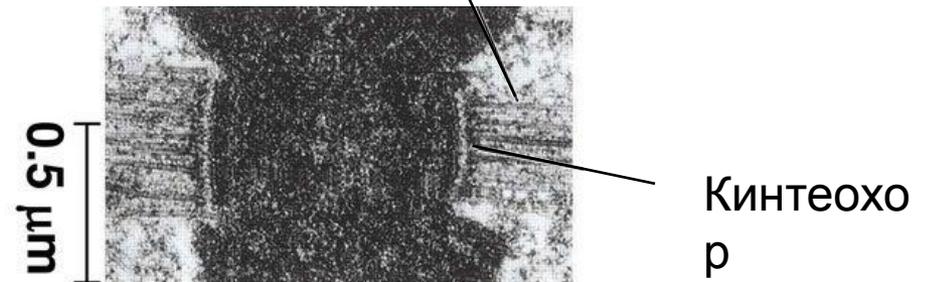
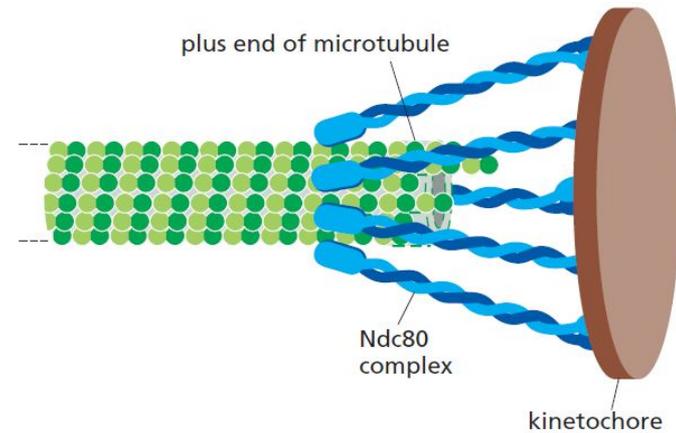
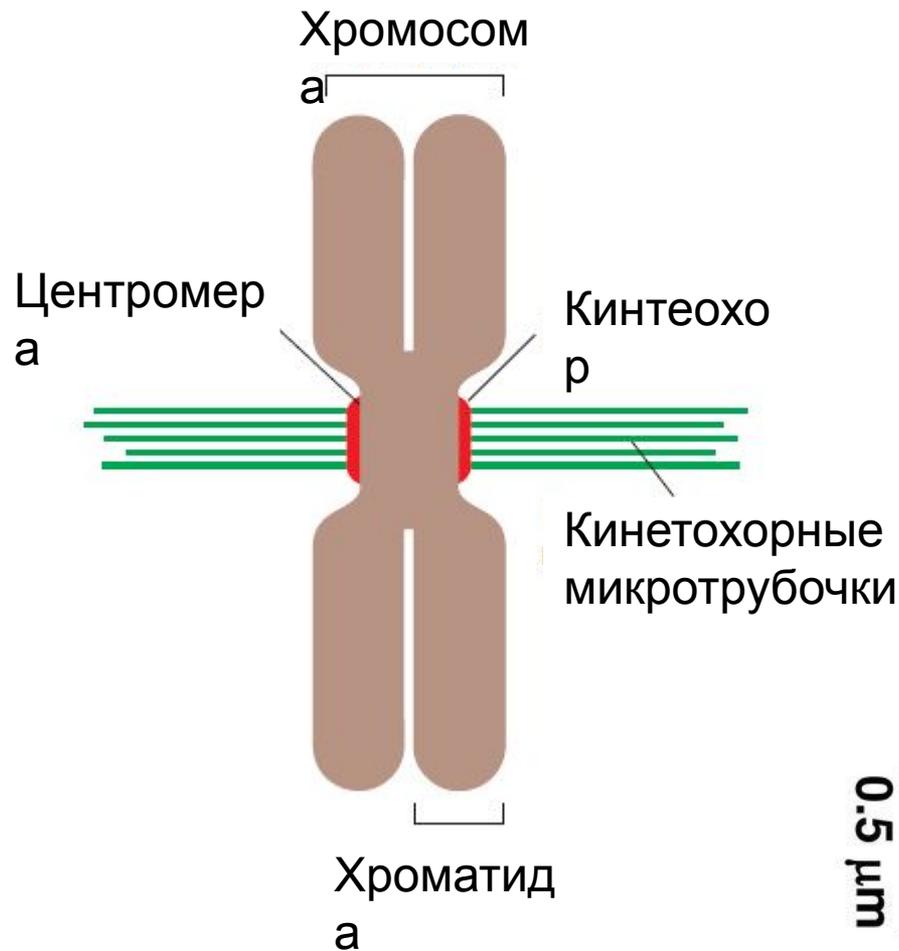


Моторные белки играют ключевую роль в формировании веретена

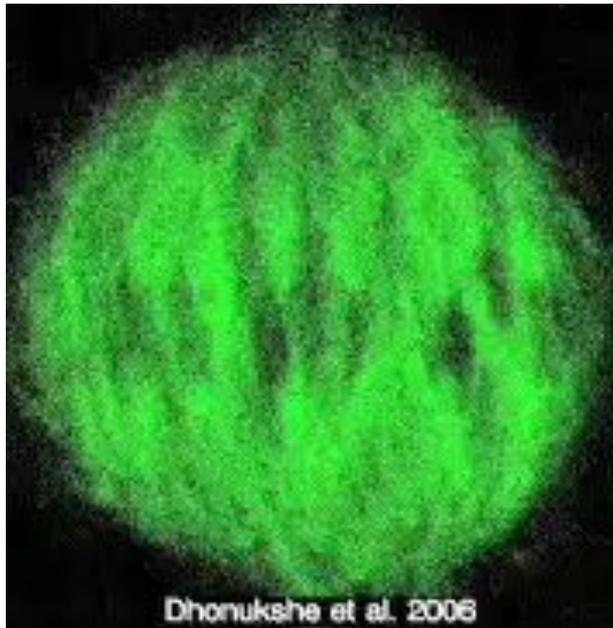


Новые микротрубочки также могут зарождаться на хромосомах

Микротрубочки присоединяются к кинетохорам



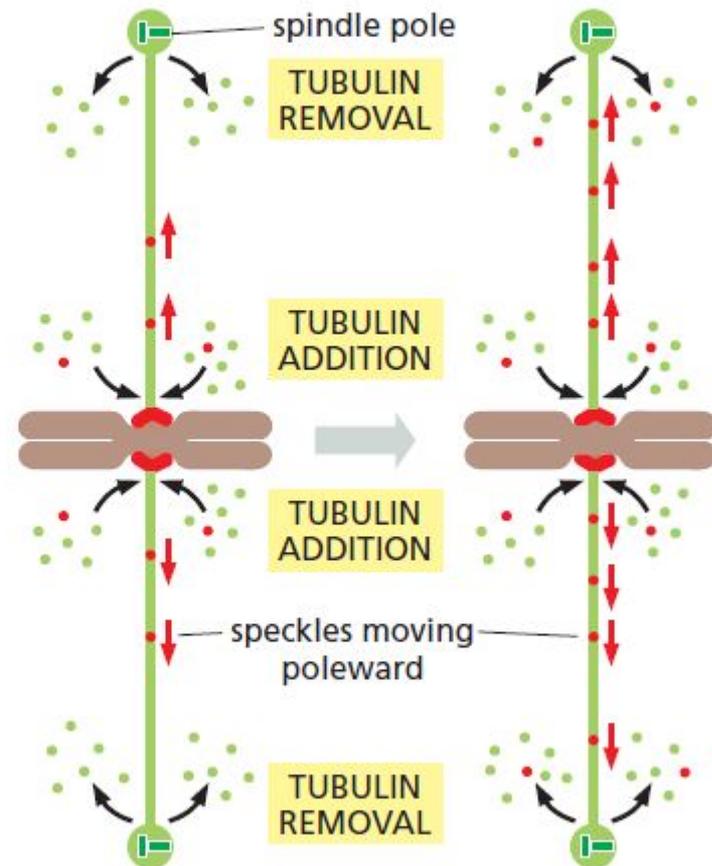
Динамика тубулина в веретене



GFP-меченный α -
тубулин.

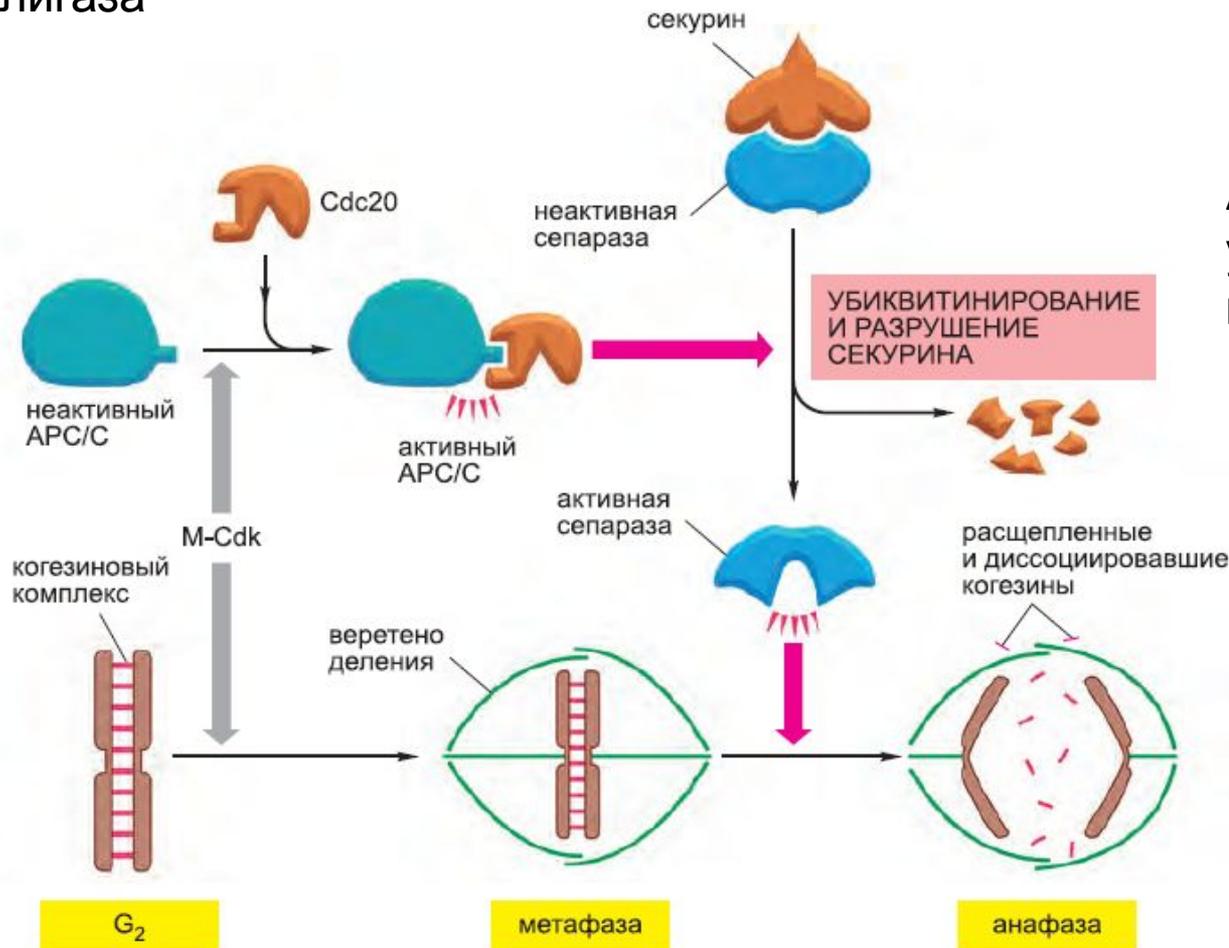
Фотообесцвечивание.

В митозе выше динамическая нестабильность
микротрубочек



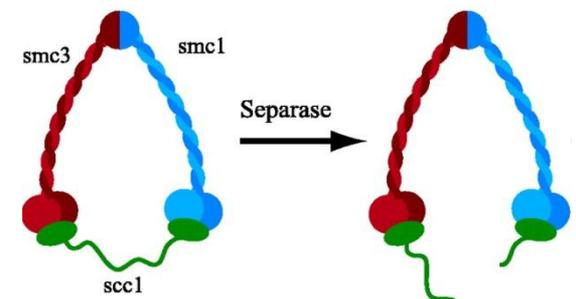
APC/C: переход к анафазе

Anaphase promoting complex/ cyclosome – это E3 - убиквитин-лигаза

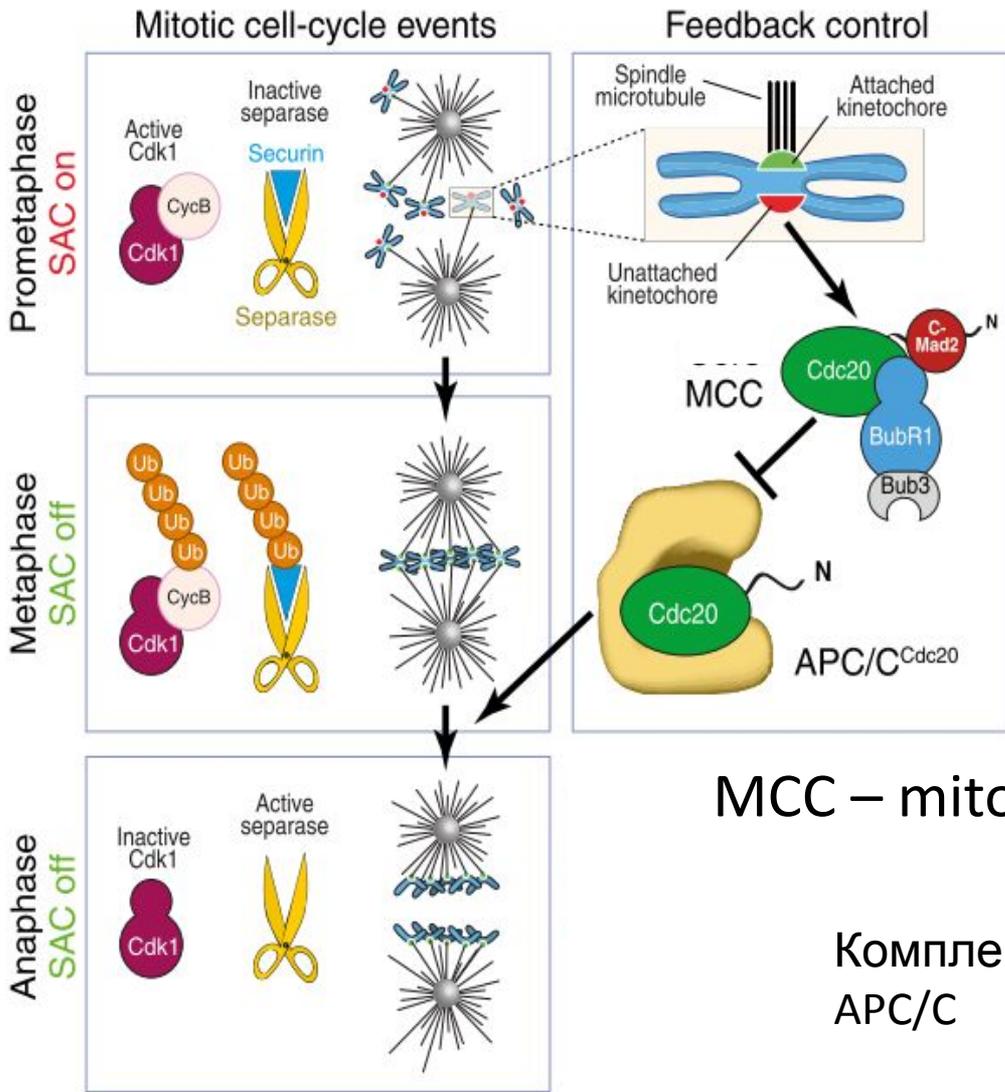


APC/C (при наличии Cdc20) убиквитинирует циклин В и секурин

Переход к анафазе, завершение митоза



Контроль перехода к анафазе: МСС



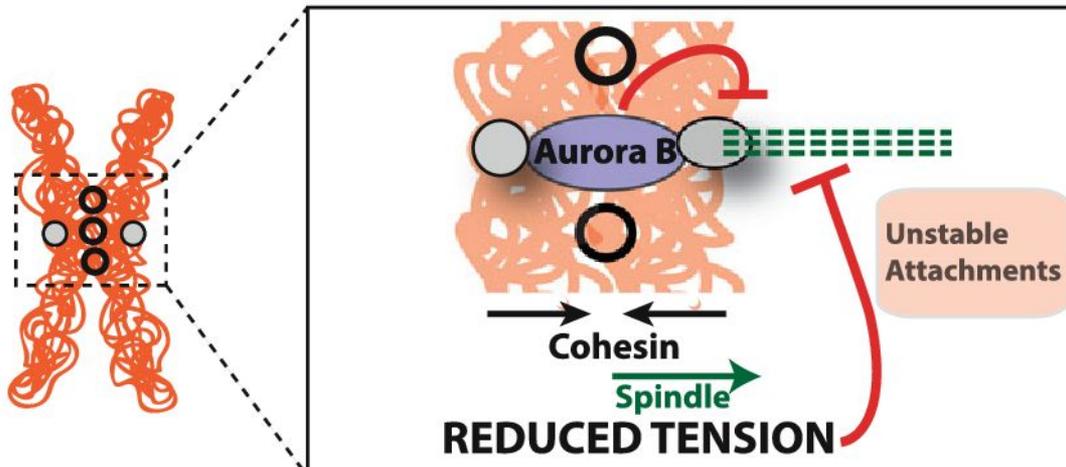
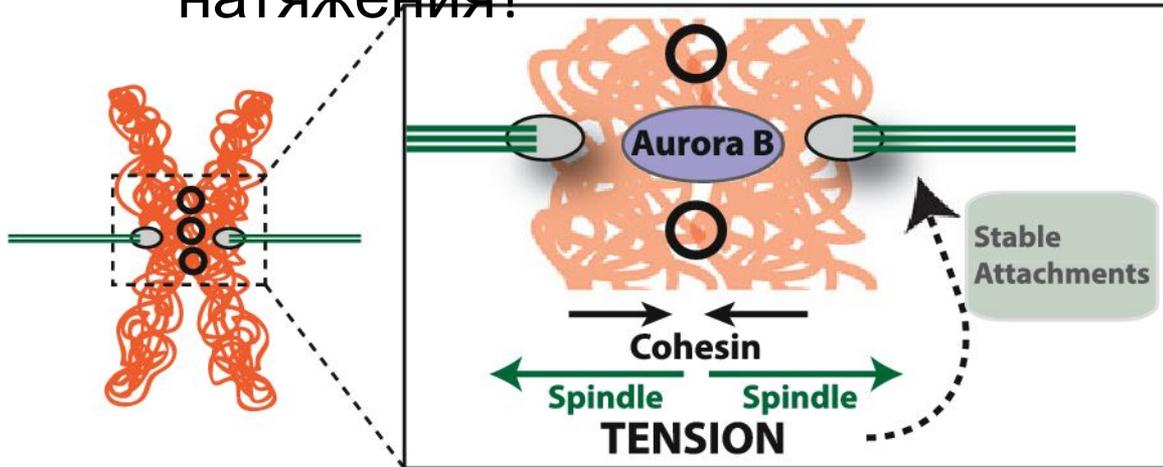
MCC – mitotic checkpoint complex

Комплекс МСС ингибирует APC/C

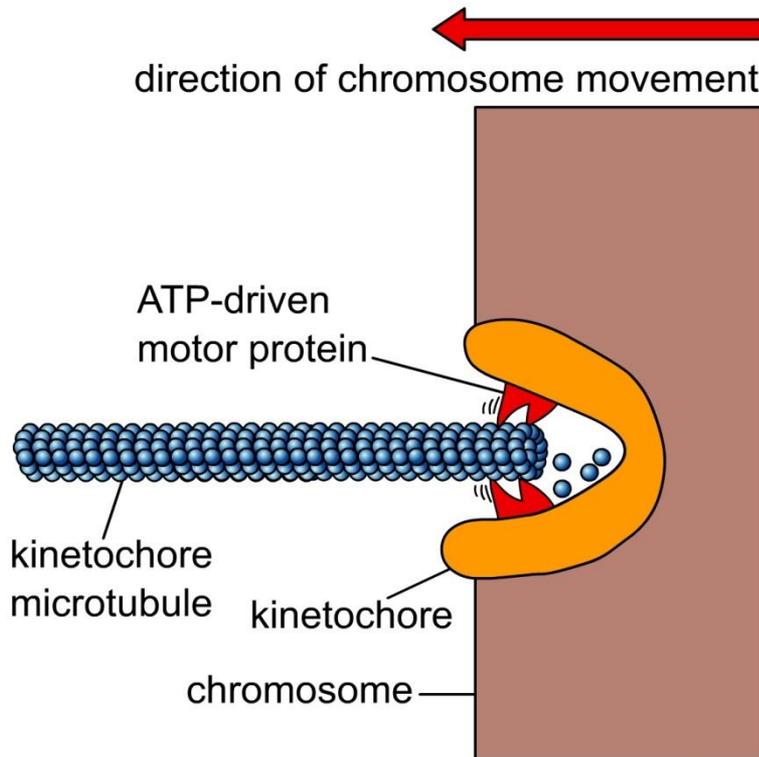
Контроль перехода к анафазе: Aurora

B

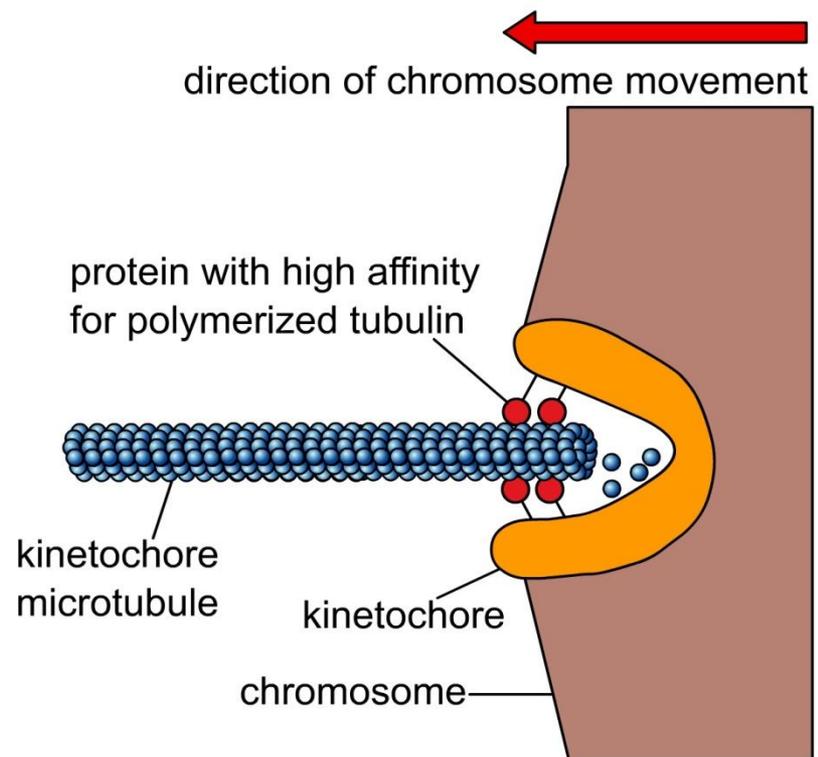
Киназа Aurora B – сенсор натяжения?



Движение хромосом: моторные белки или разборка микротрубочек?

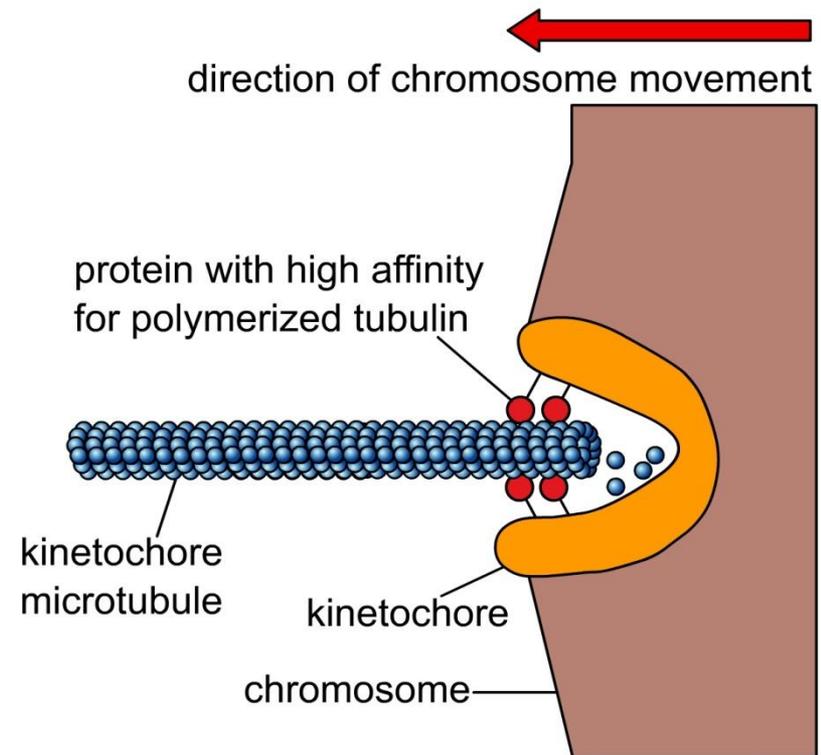
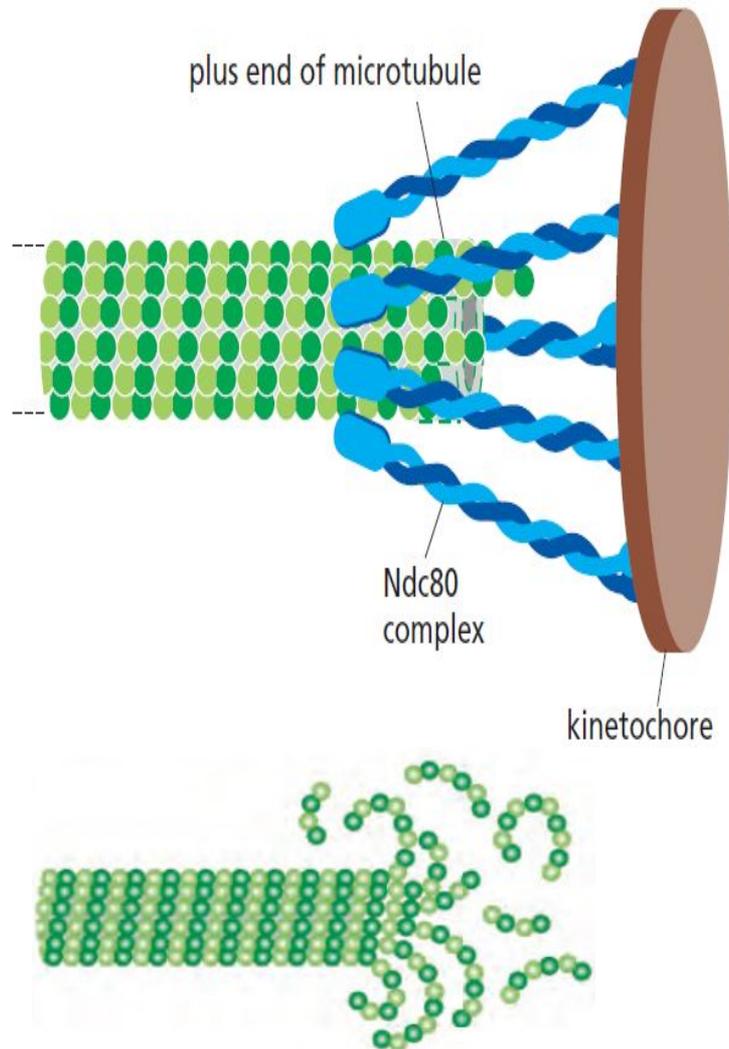


Моторные белки (динеины?) передвигают хромосомы к (-) концам МТ

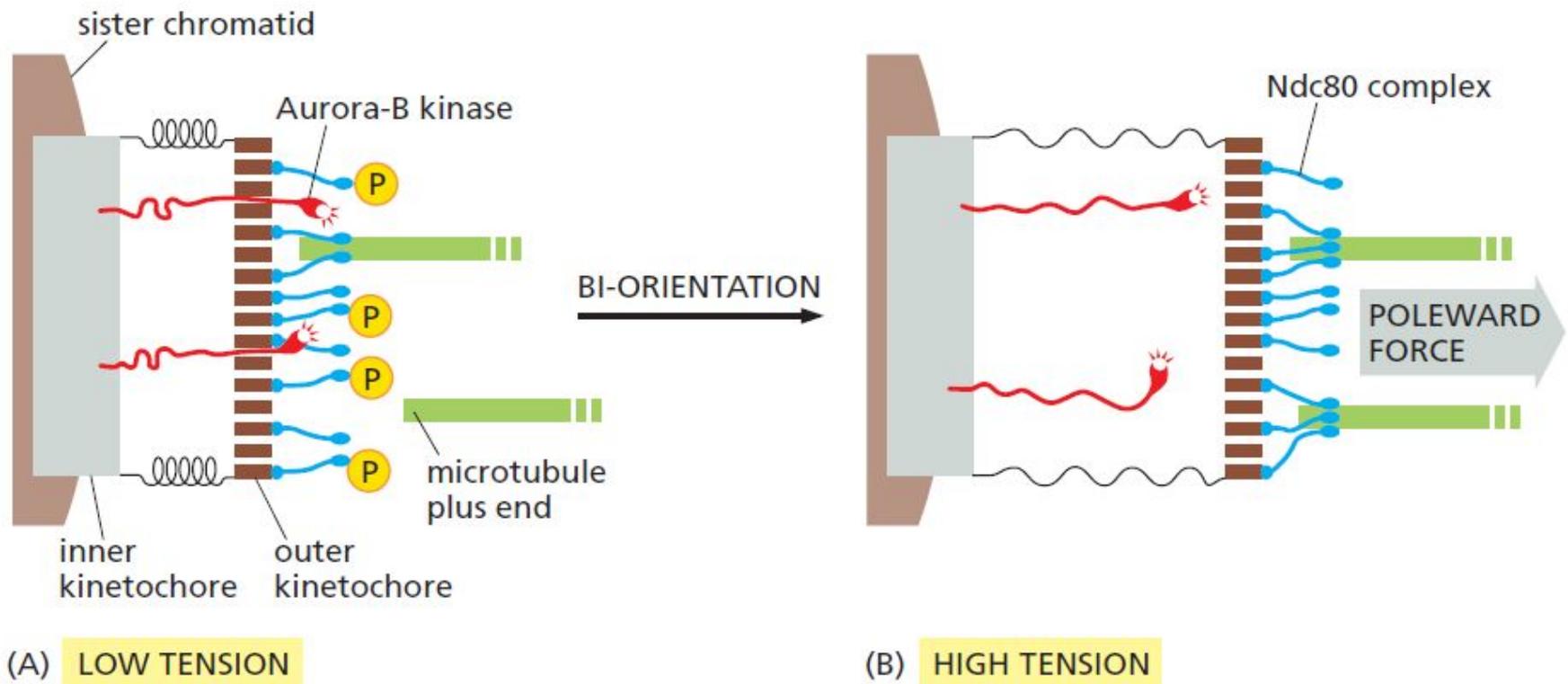


Моторные белки не нужны, разбирающаяся микротрубочка сама создает движущую силу

Движение хромосом: моторные белки или разборка микротрубочек?

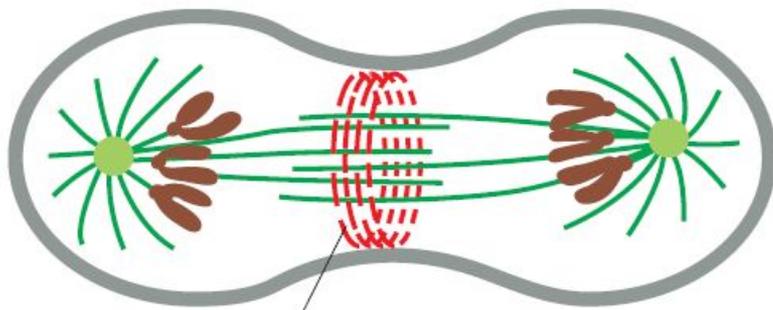


Моторные белки не нужны,
разбирающаяся микротрубочка
сама создает движущую силу

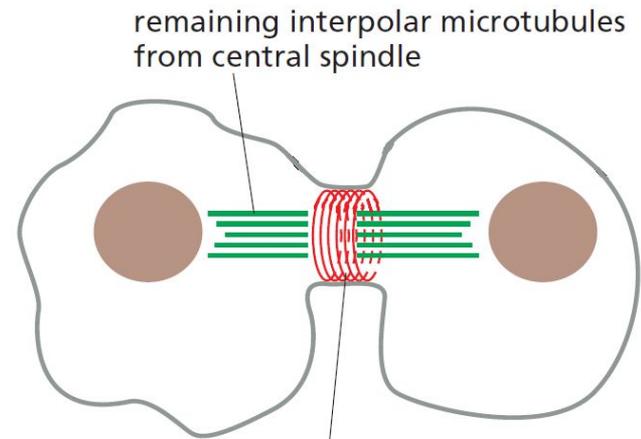


Цитокинез

Сократимое кольцо из актина и миозина по экватору
клетки

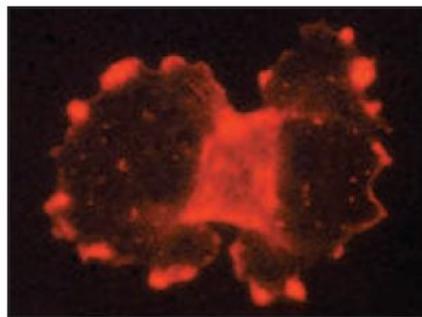


actin and myosin filaments of the
contractile ring

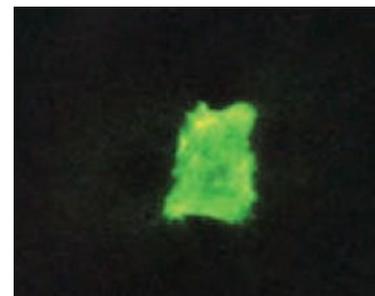


remaining inter polar microtubules
from central spindle

contractile ring of actin and
myosin filaments in cleavage furrow

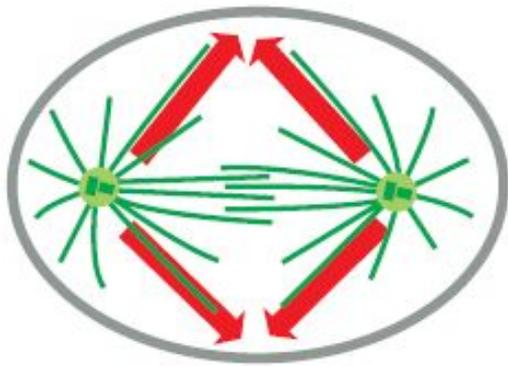


АКТИН

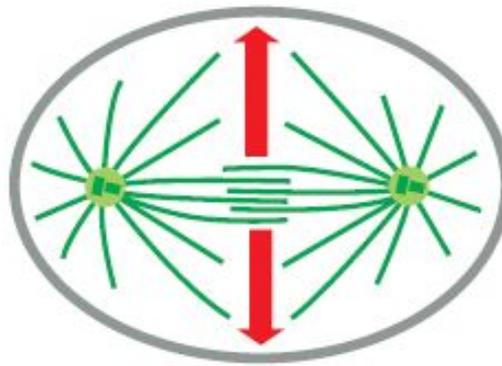


МИОЗИН

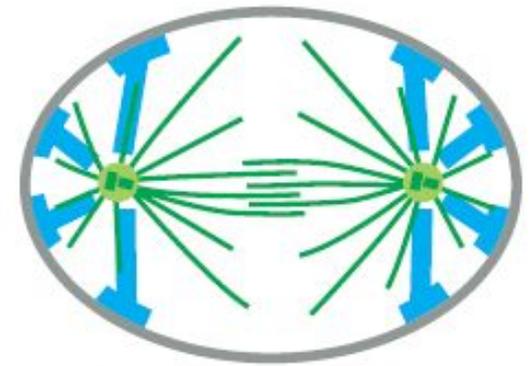
Веретено деления определяет место формирования сократимого кольца



astral stimulation model



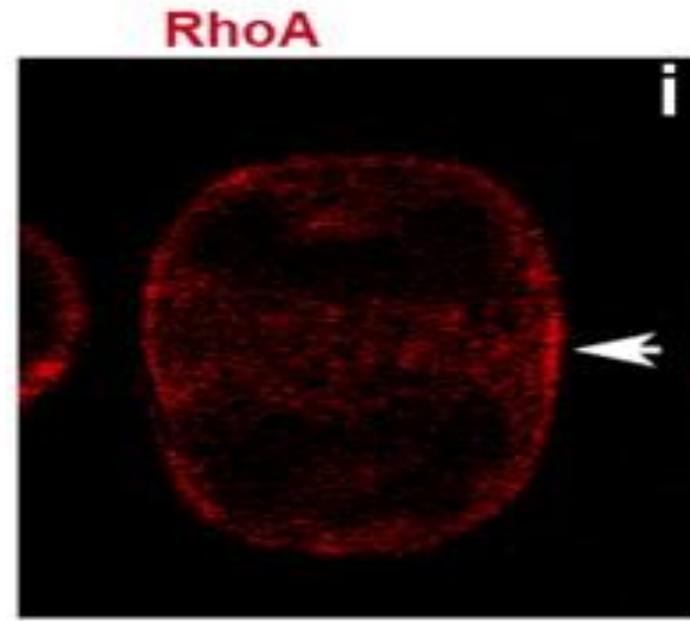
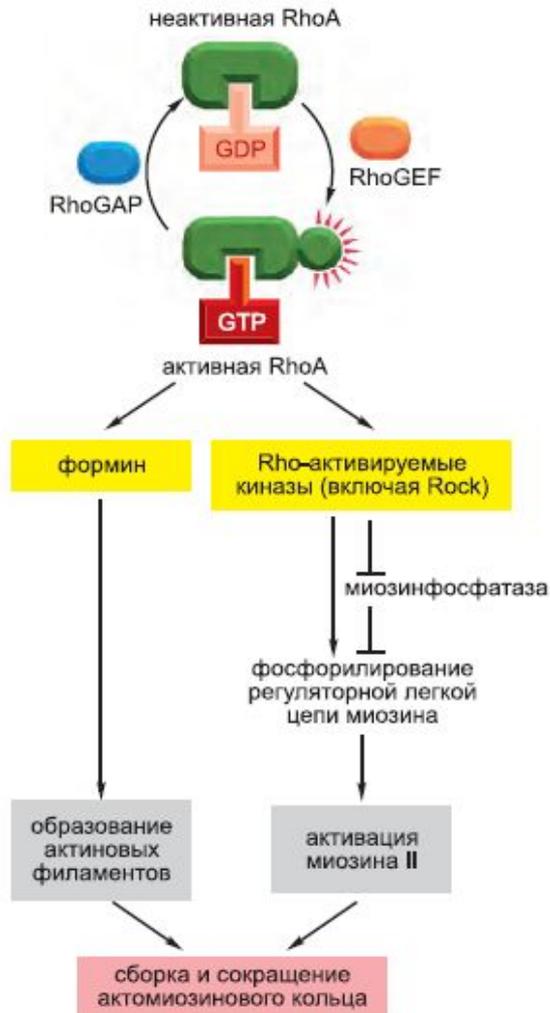
central spindle stimulation model



astral relaxation model

Цитокинез запускается вследствие деградации циклина В и дефосфорилирования различных белков

Образование сократимого кольца: RhoA



RhoA запускает сборку актина и активацию миозина II

У растений при цитокинезе образуется клеточная пластинка

кольцо микротрубочек

Микротрубочка

Клеточная
пластинка

пластинка

Клеточная
стенка

G₂

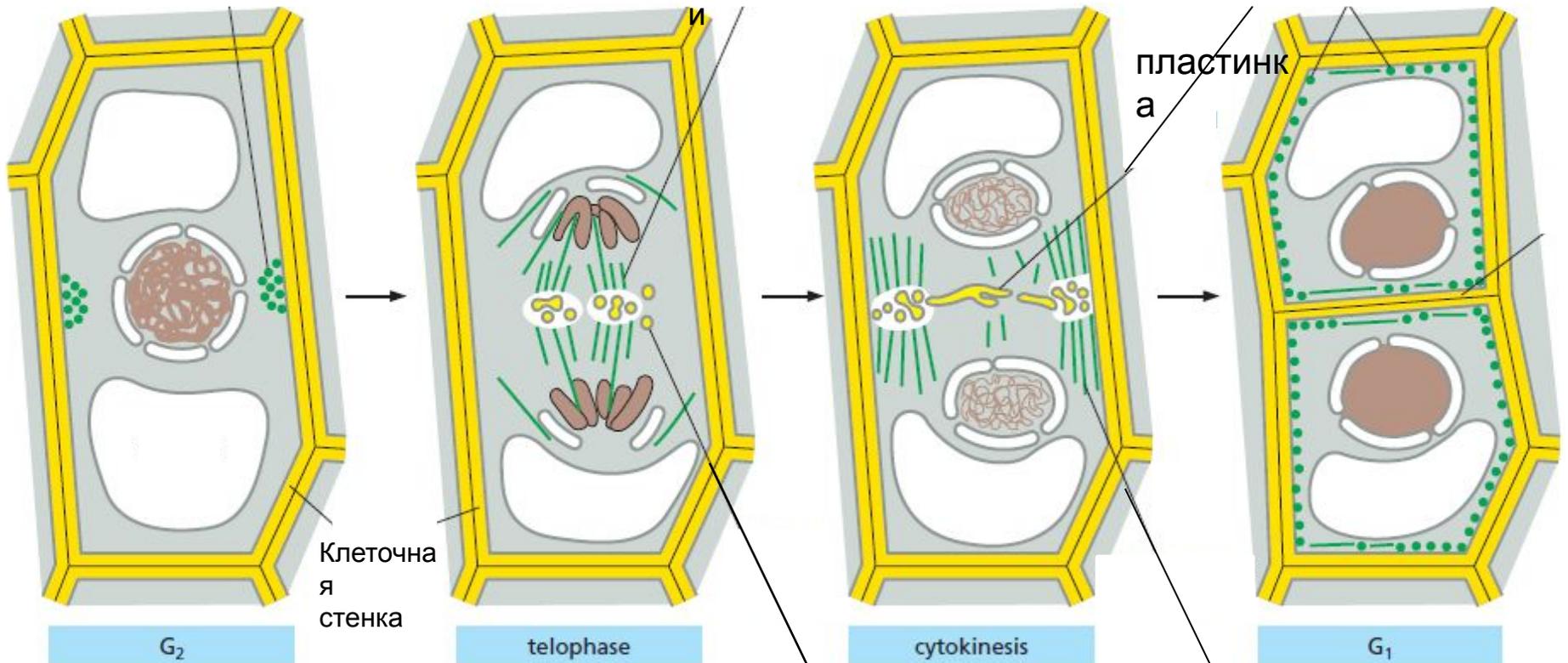
telophase

cytokinesis

G₁

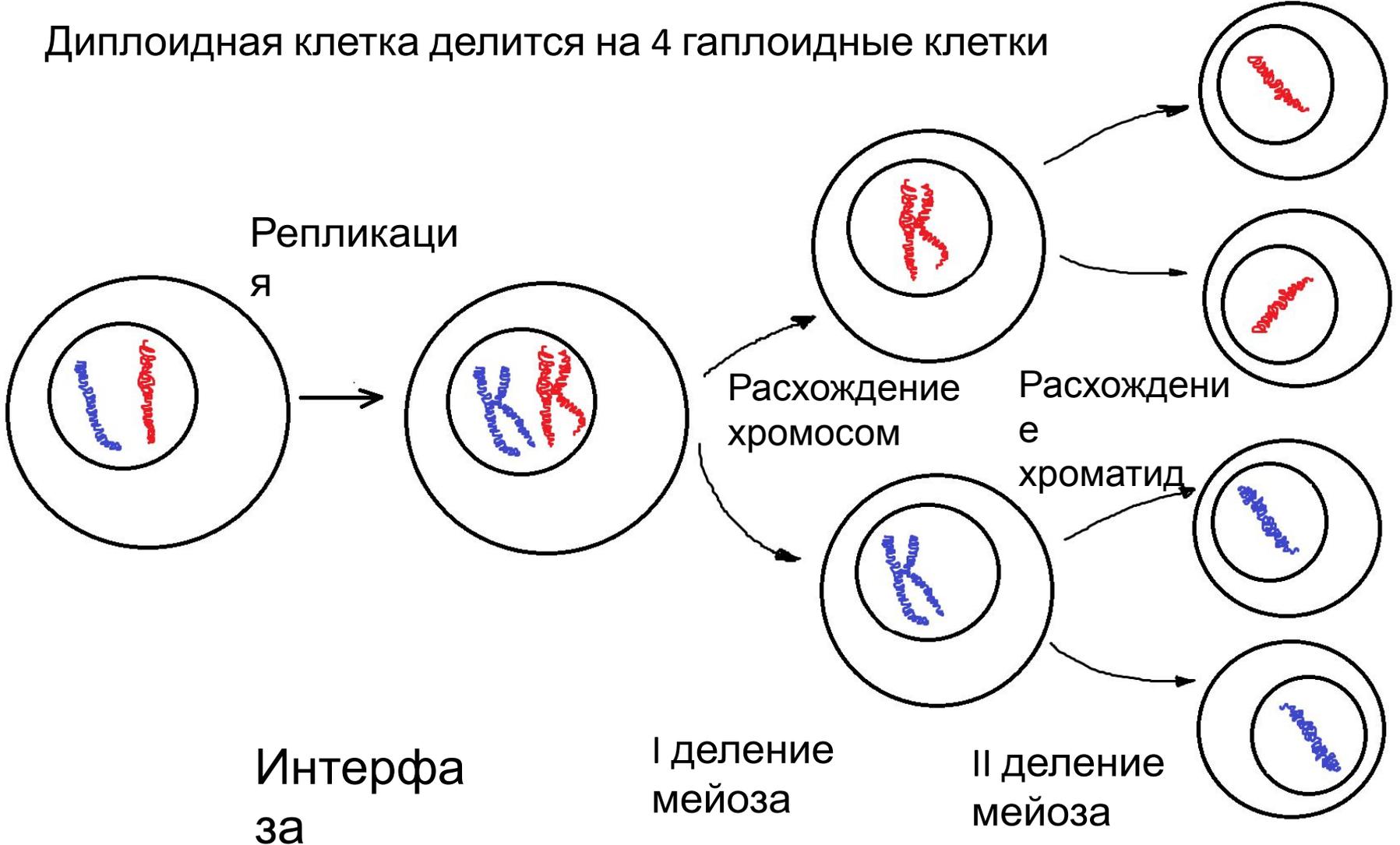
Везикулы от
комплекса
Гольджи

Фрагмопласт



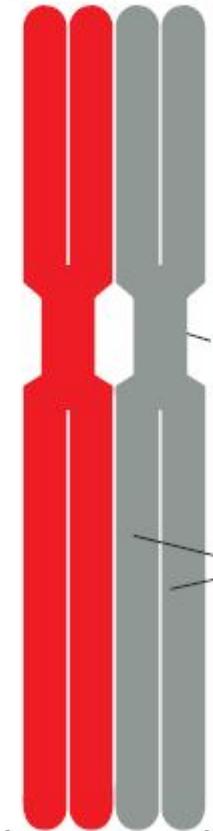
Мейоз – редукционное деление ядра

Диплоидная клетка делится на 4 гаплоидные клетки



В профазе мейоза I гомологичные хромосомы образуют **биваленты**

Гомологичные хромосомы



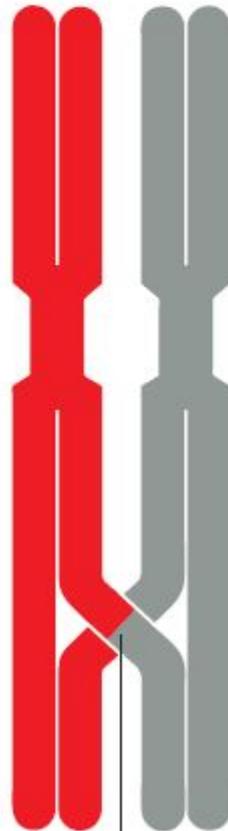
Центромер а

Сестринские хроматиды

бивален

Хромосомы конденсируются

Между гомологичными хромосомами происходит **кроссинговер**

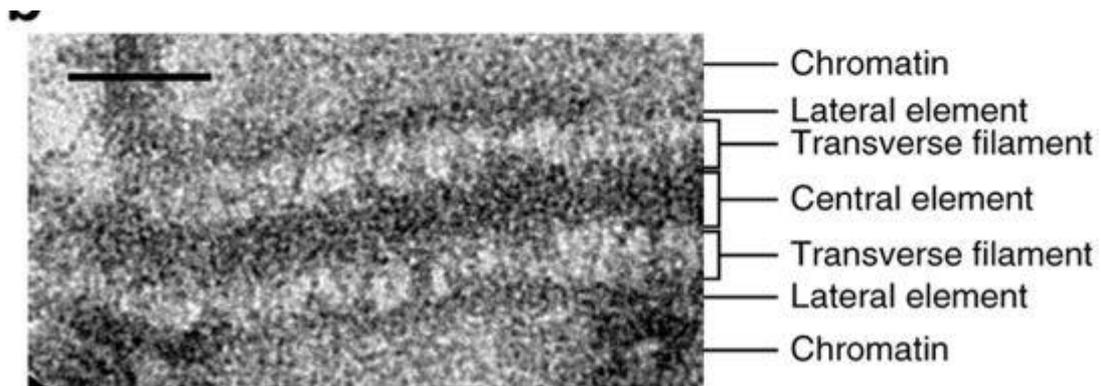
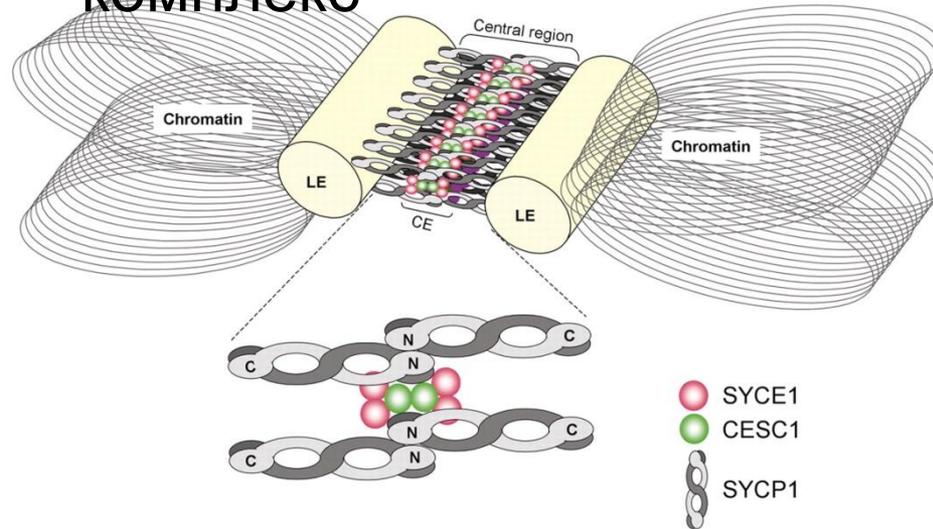


Хиазм

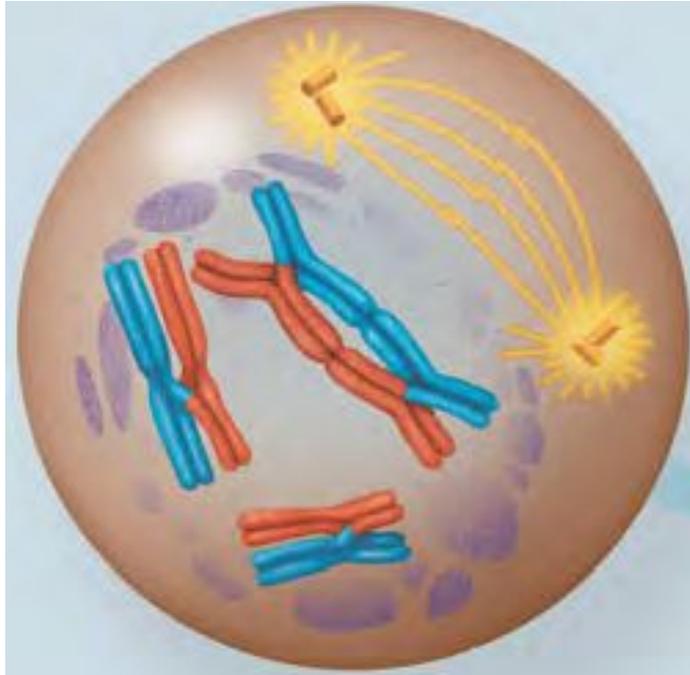


Профаза мейоза I

Синаптонемный комплекс



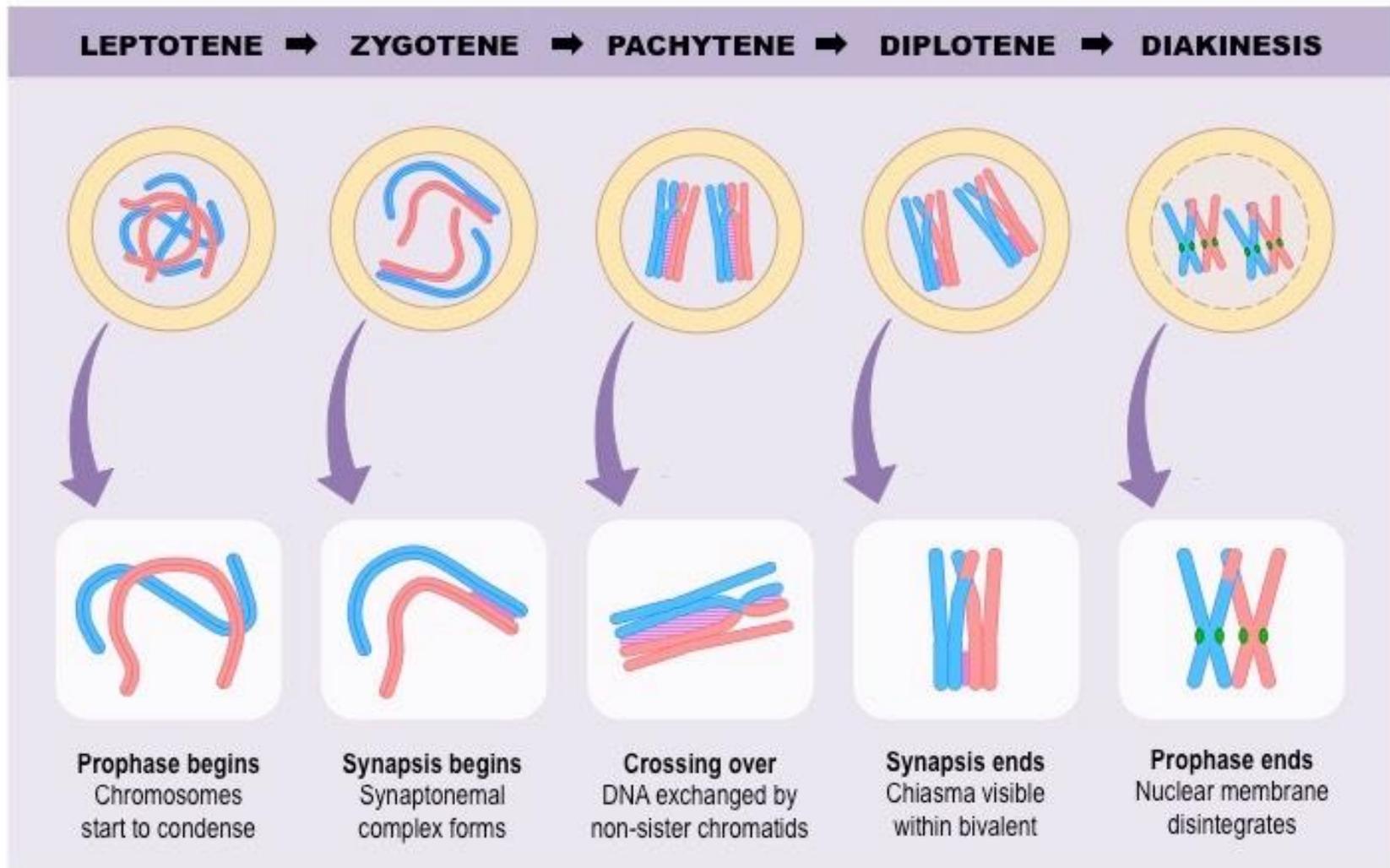
Фазы мейоза: профаза I



$2n=6$

- Хромосомы конденсируются
- Формируется веретено деления
- Гомологичные хромосомы попарно объединяются (биваленты)
- Происходит кроссинговер
- Исчезает ядерная мембрана

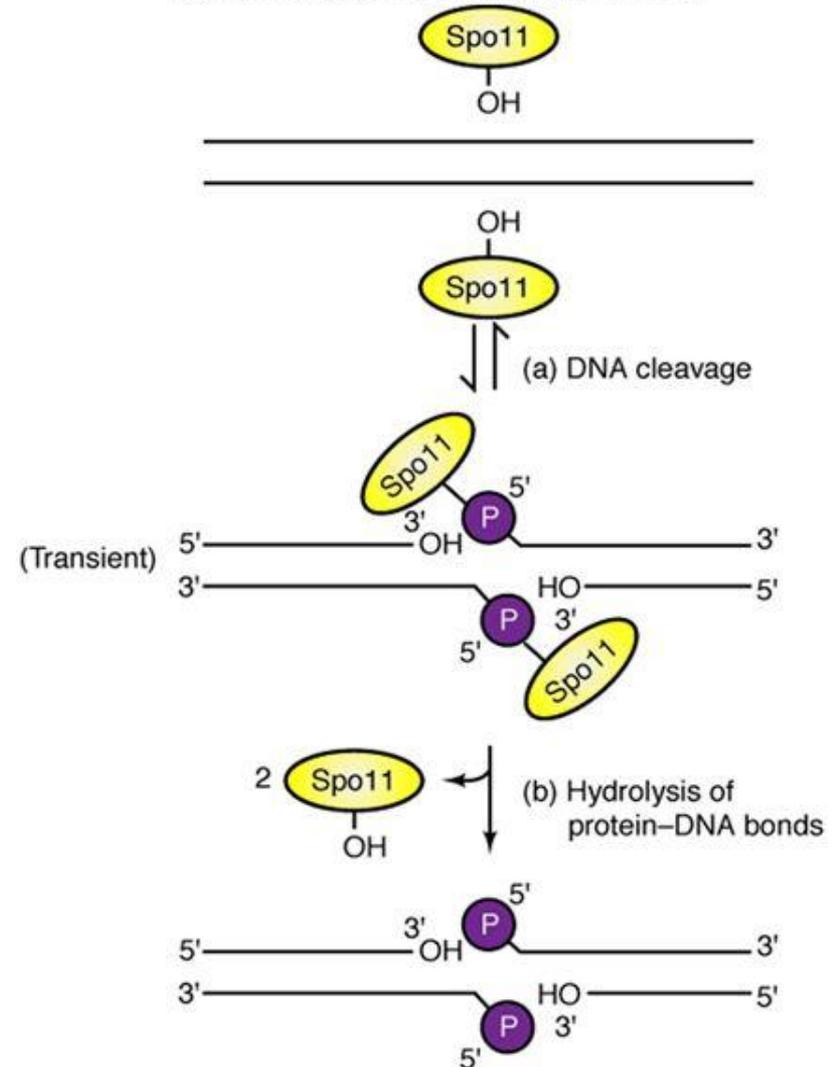
Профаза мейоза I



Профаза мейоза I

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Нуклеаза Spo11 вносит двуцепочечные разрывы, необходимые для запуска гомологичной рекомбинации

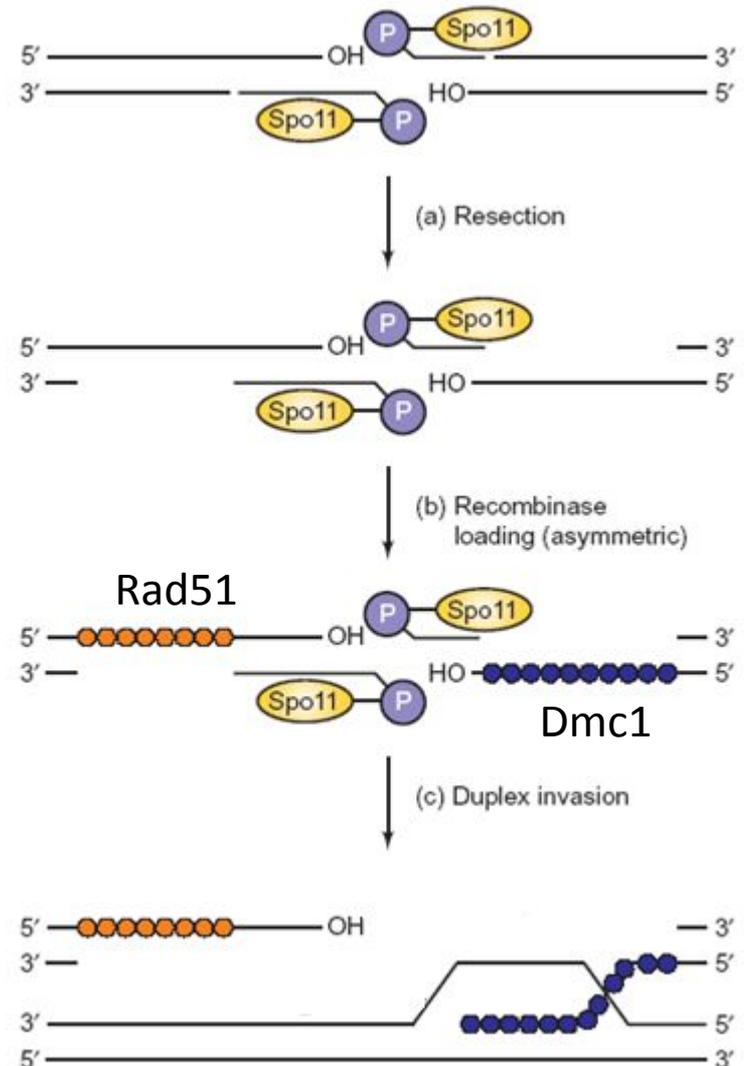


Spo11 – гомолог топоизомераз II типа

Профаза мейоза I

Механизм кроссинговера –
гомологичная рекомбинация

Белки Rad51 и Dmc1 обеспечивают
внедрение цепочек ДНК



Гомологичная рекомбинация



Внедрение и удлинение 3'-конца

Захват
второго конца

Образование двух
структур Холлидея



Разрешение
структур
Холлидея



Некроссоверный продукт

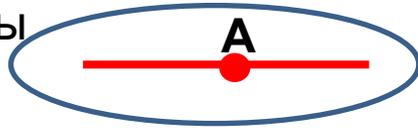


Кроссоверный продукт

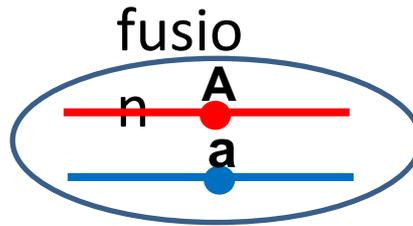


Конверсия генов

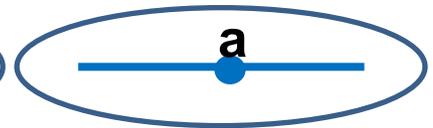
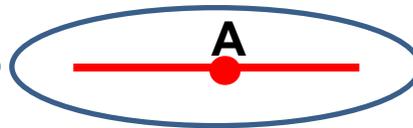
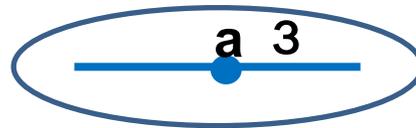
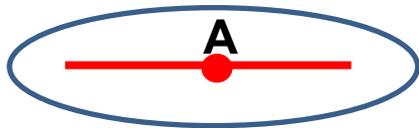
Превращение одного аллеля в другой при кроссинговере у гетерозиготы



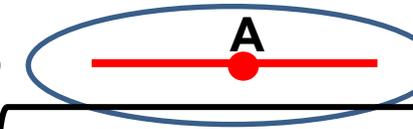
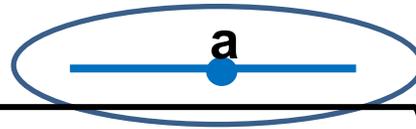
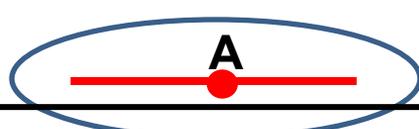
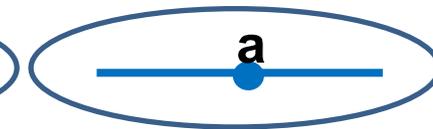
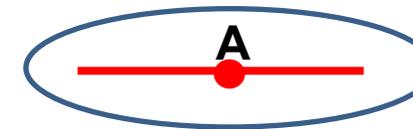
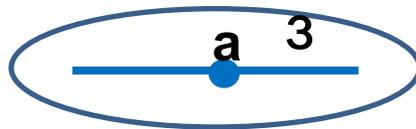
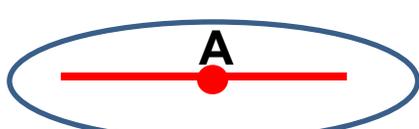
1n



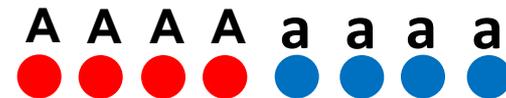
мейо



МИТО



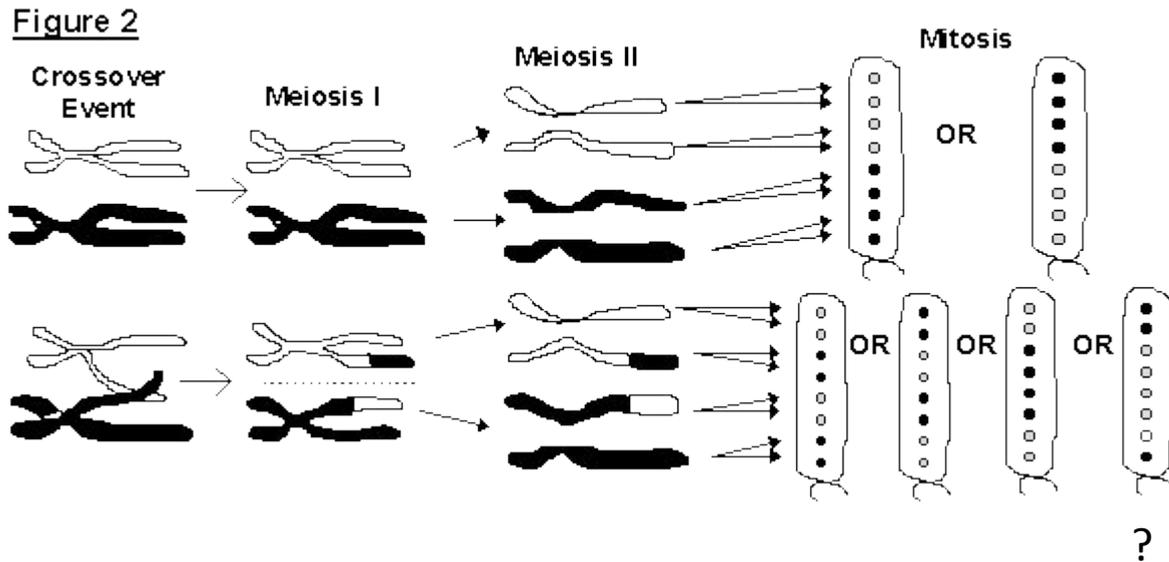
СПОР
Ы



Половой процесс и образование спор у *Neurospora*

Конверсия генов

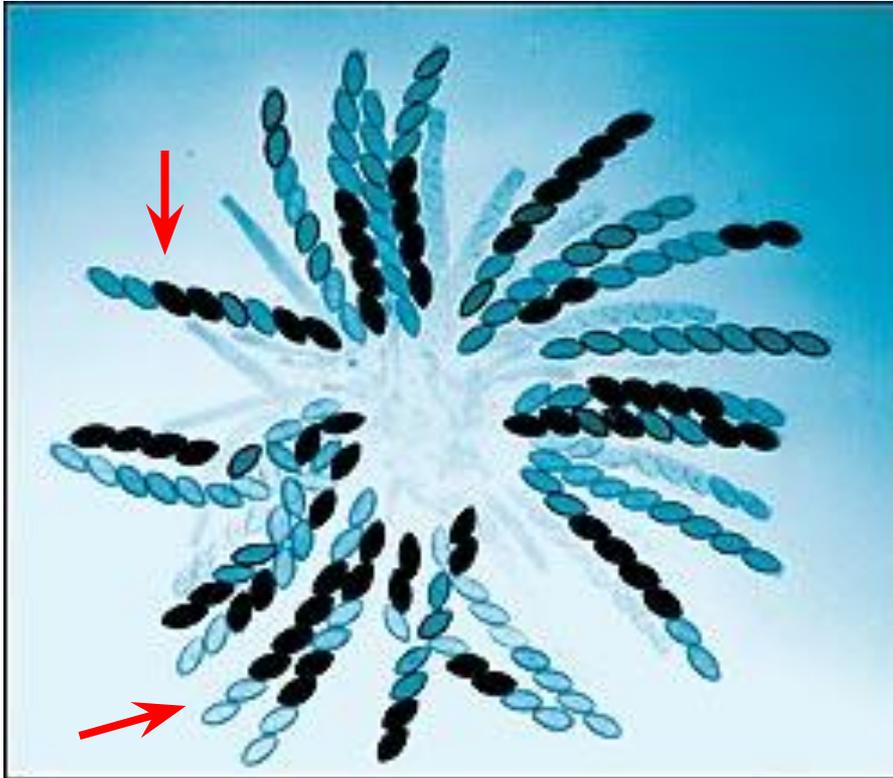
Превращение одного аллеля в другой при кроссинговере у гетерозиготы



В ходе развития сумки у *Neurospora crassa* порядок расположения аскоспор не меняется

Конверсия генов

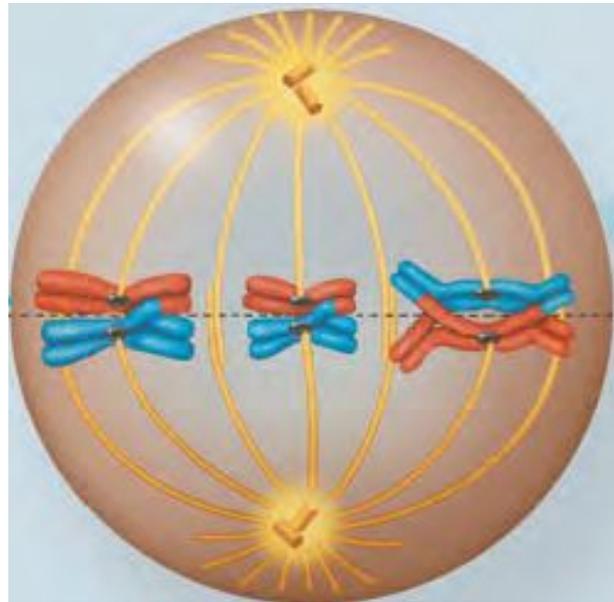
В ходе развития сумки у *Neurospora crassa* порядок расположения аскоспор не меняется



Проявление кроссинговера – чередование пар черных и белых спор

Проявление конверсии генов – неодинаковое число черных и белых спор в аске

Фазы мейоза: метафаза I



← Метафазная
пластинка

- Микротрубочки веретена присоединяются к кинетохорам
- Биваленты выстраиваются по экватору клетки

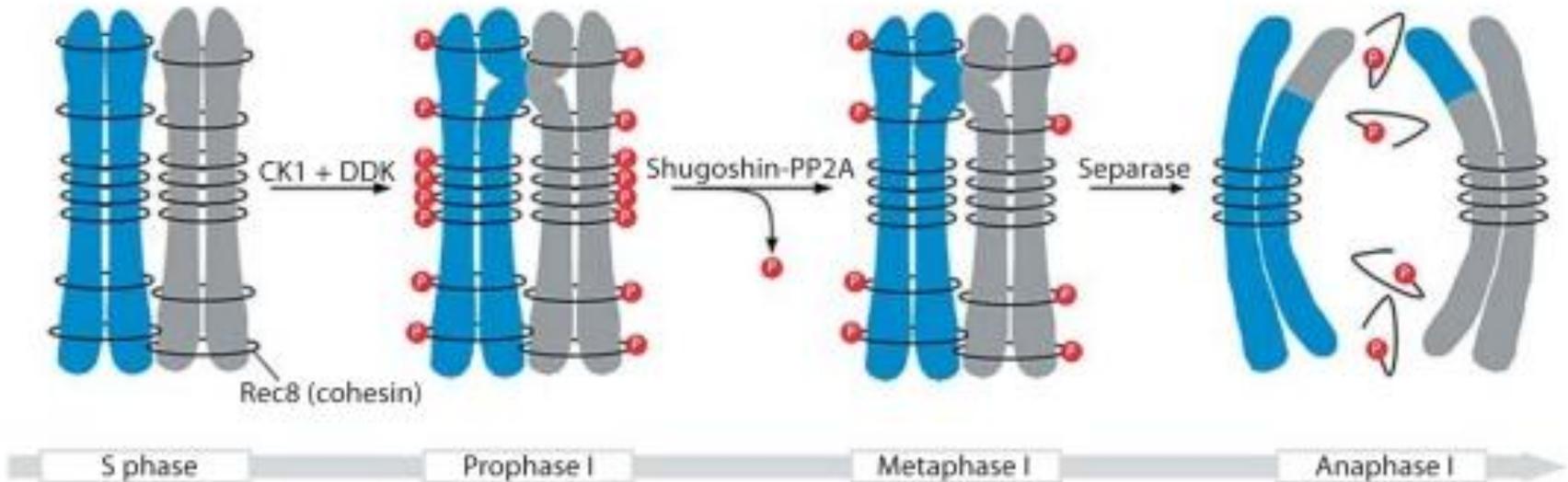
Фазы мейоза: анафаза I



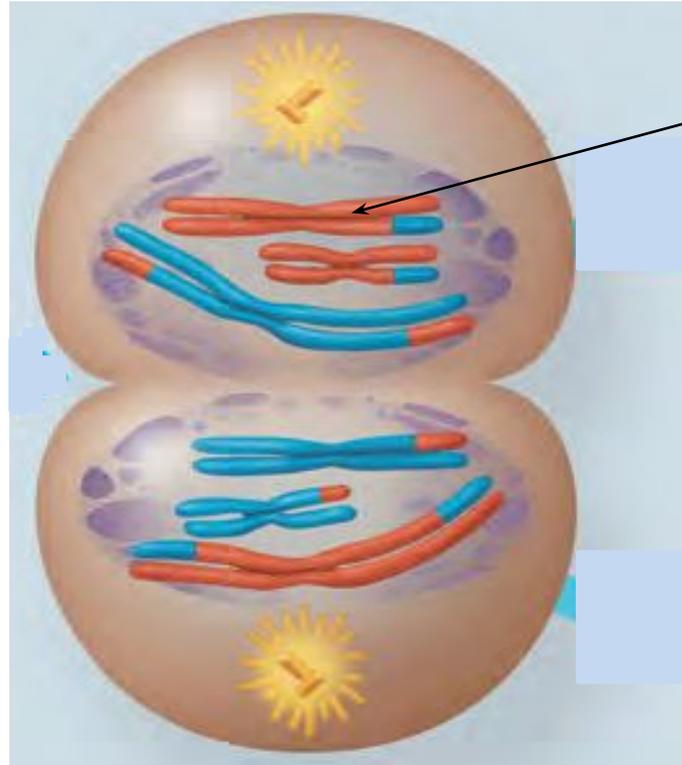
- **Гомологичные хромосомы** расходятся к противоположным полюсам
- Клетка удлиняется

Фазы мейоза: анафаза I

Шугошин защищает когезины в районе центromеры в первом делении мейоза



Фазы мейоза: телофаза I и ЦИТОКИНЕЗ



В каждом ядре –
гаплоидный набор
удвоенных хромосом
($n=3$)

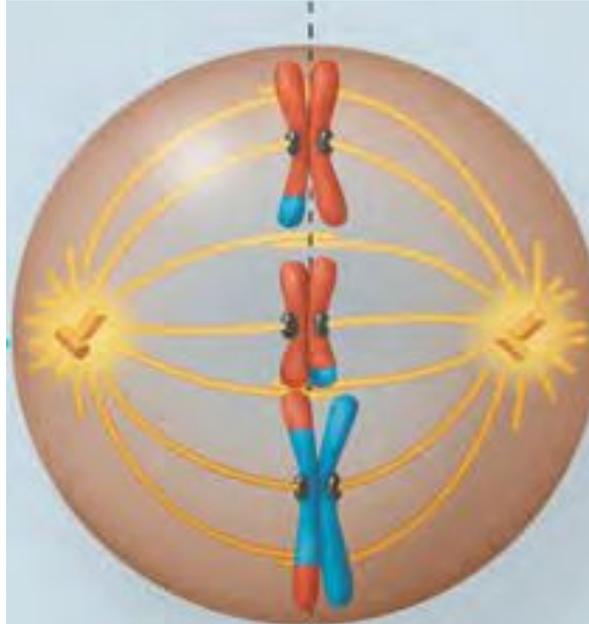
- Разбирается веретено деления
- Иногда восстанавливается ядерная оболочка и деконденсируются хромосомы
- Происходит деление цитоплазмы

Фазы мейоза: профаза II



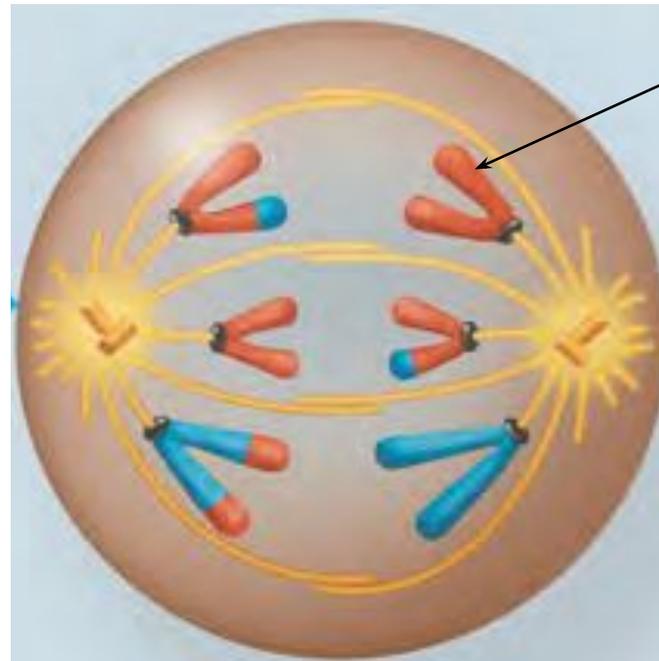
- Формируется веретено деления
- (ядерная оболочка разрушается)
- (хромосомы конденсируются)

Фазы мейоза: метафаза II



- Хромосомы выстраиваются по экватору клетки
- К каждой хроматиде прикреплены микротрубочки

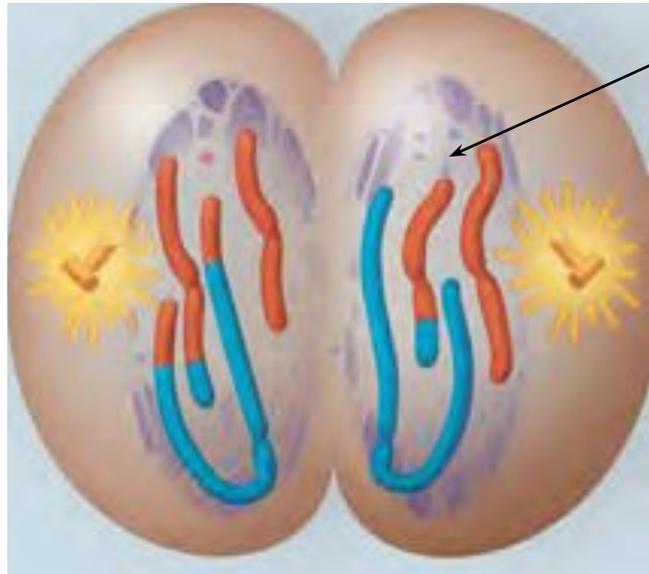
Фазы мейоза: анафаза II



Хроматид
а

- Хроматиды расходятся к противоположным полюсам

Фазы мейоза: телофаза II и ЦИТОКИНЕЗ

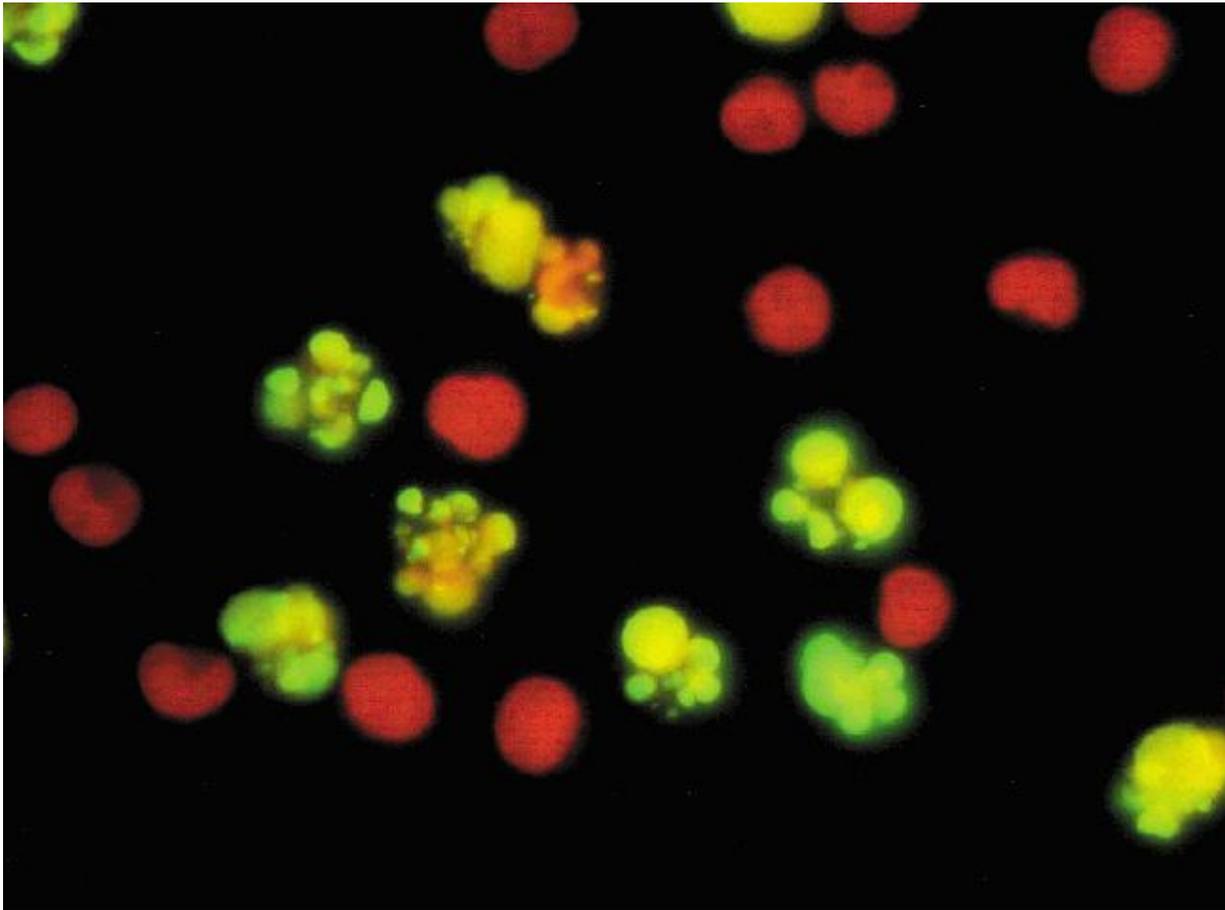


Клетка с
гаплоидным
набором хромосом

- Ядерная оболочка восстанавливается
- Веретено деления разбирается
- Происходит цитокинез

АПОПТОЗ

Программируемая клеточная
гибель

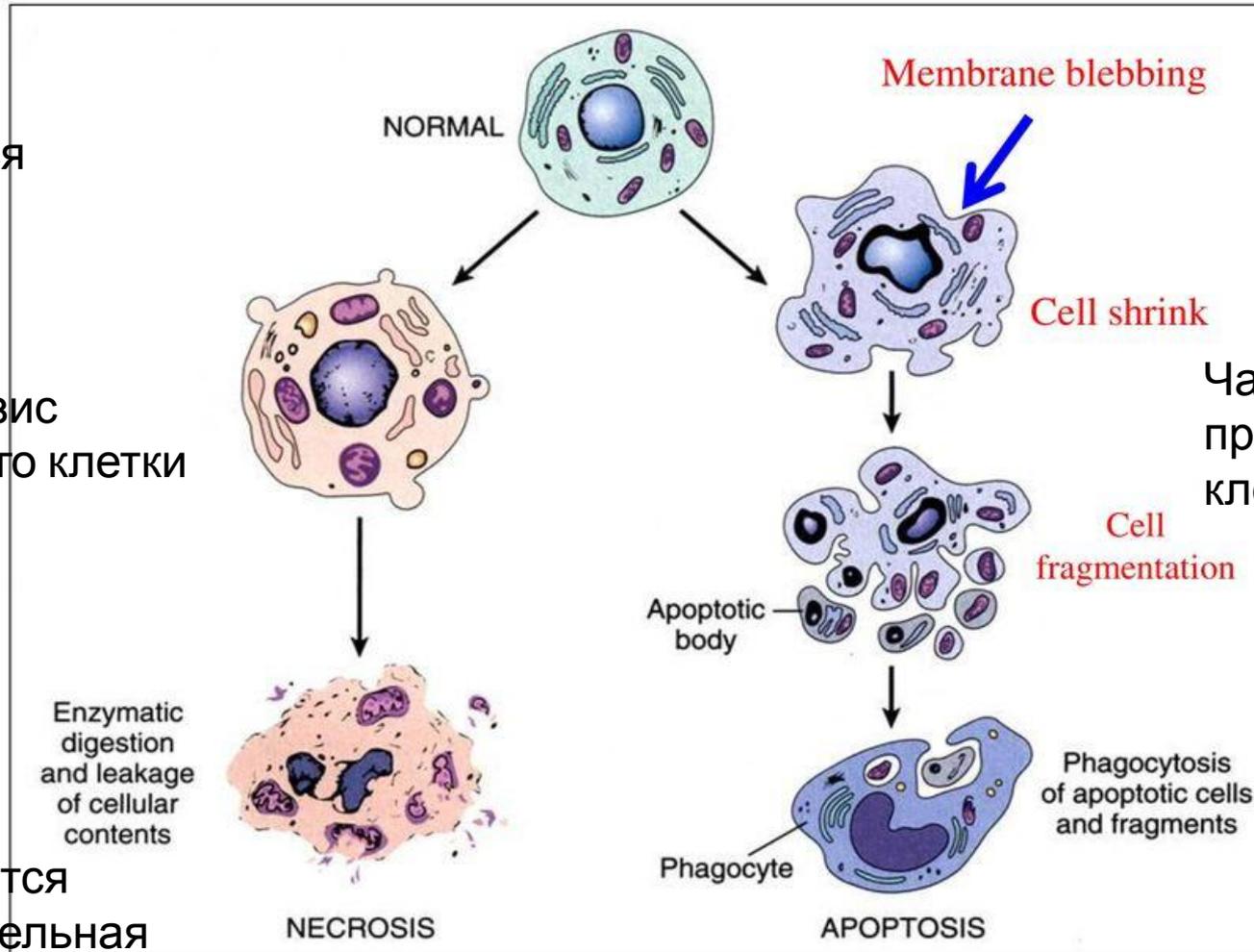


Апоптоз vs некроз

Мембрана разрушается

Полный лизис содержимого клетки

Развивается воспалительная реакция



Мембрана не разрушается

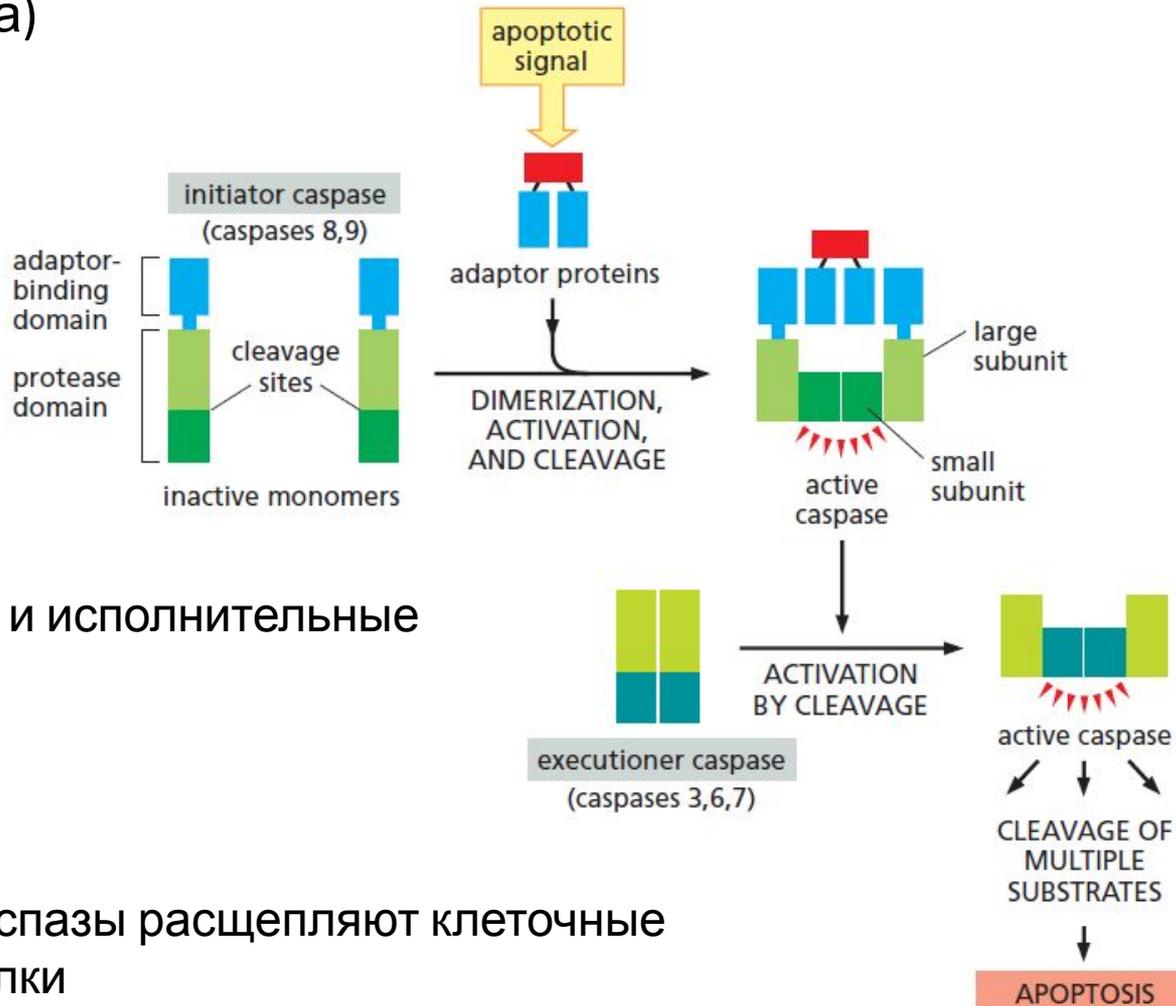
Частичный протеолиз клеточных белков

NECROSIS

APOPTOSIS

АПОПТОЗ

Каспазы – цистеиновые аспартазы
(в активном центре цистеин, разрезают белки после аспартата)

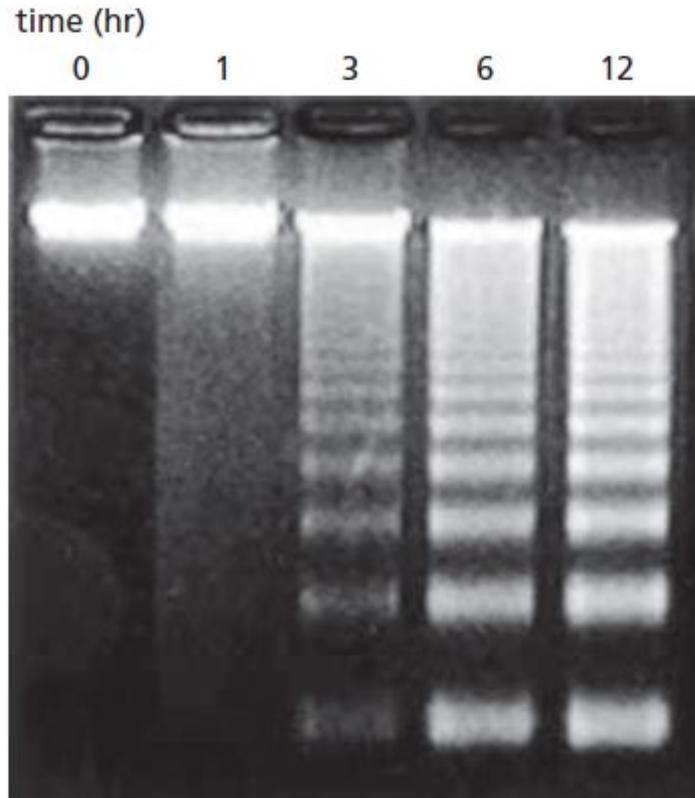
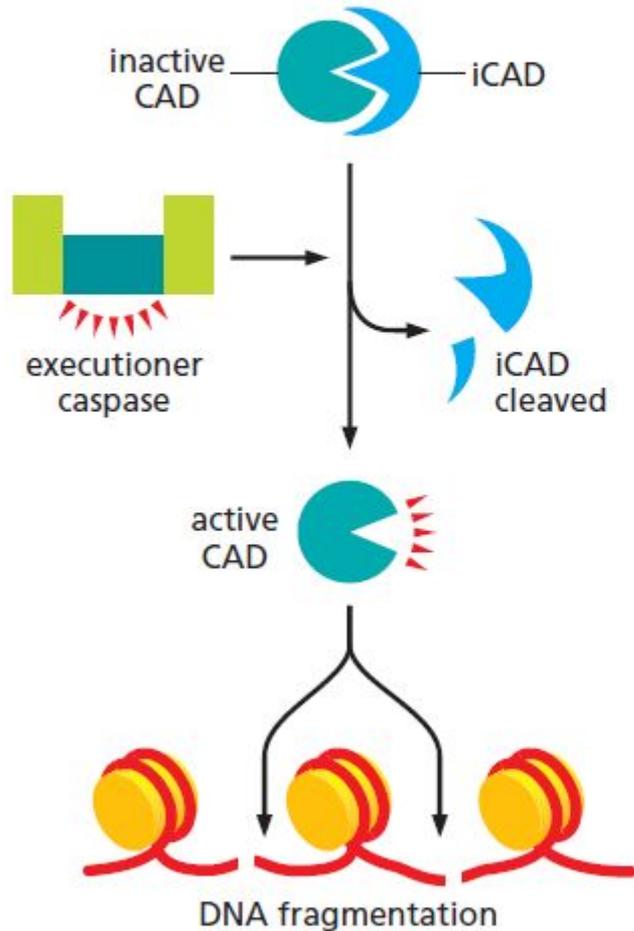


Инициаторные и исполнительные каспазы

Каспазы расщепляют клеточные белки

АПОПТОЗ

Нарезка ДНК по нуклеосомам – лесенка на электрофорезе

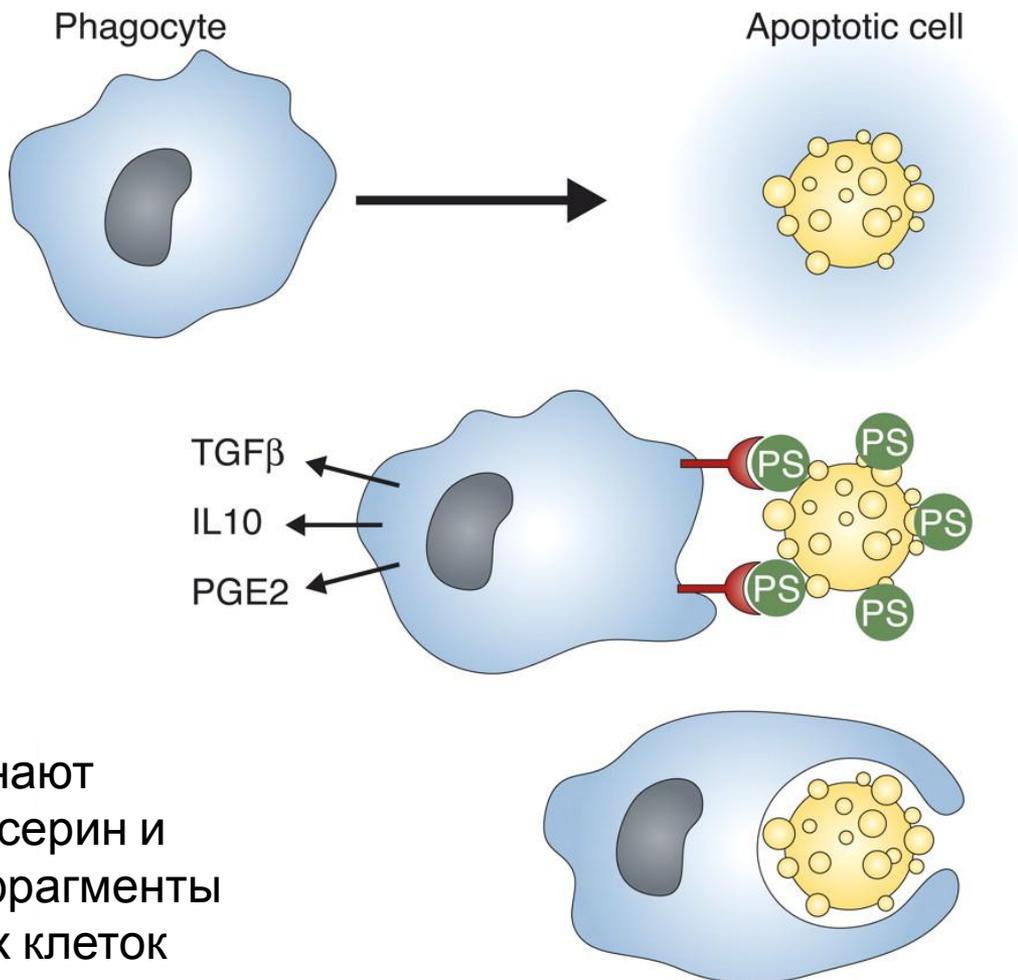


(B)

CAD – caspase-activated DNase

АПОПТОЗ

Маркер апоптоза – появление фосфатидилсерина (PS) на внешней стороне мембраны

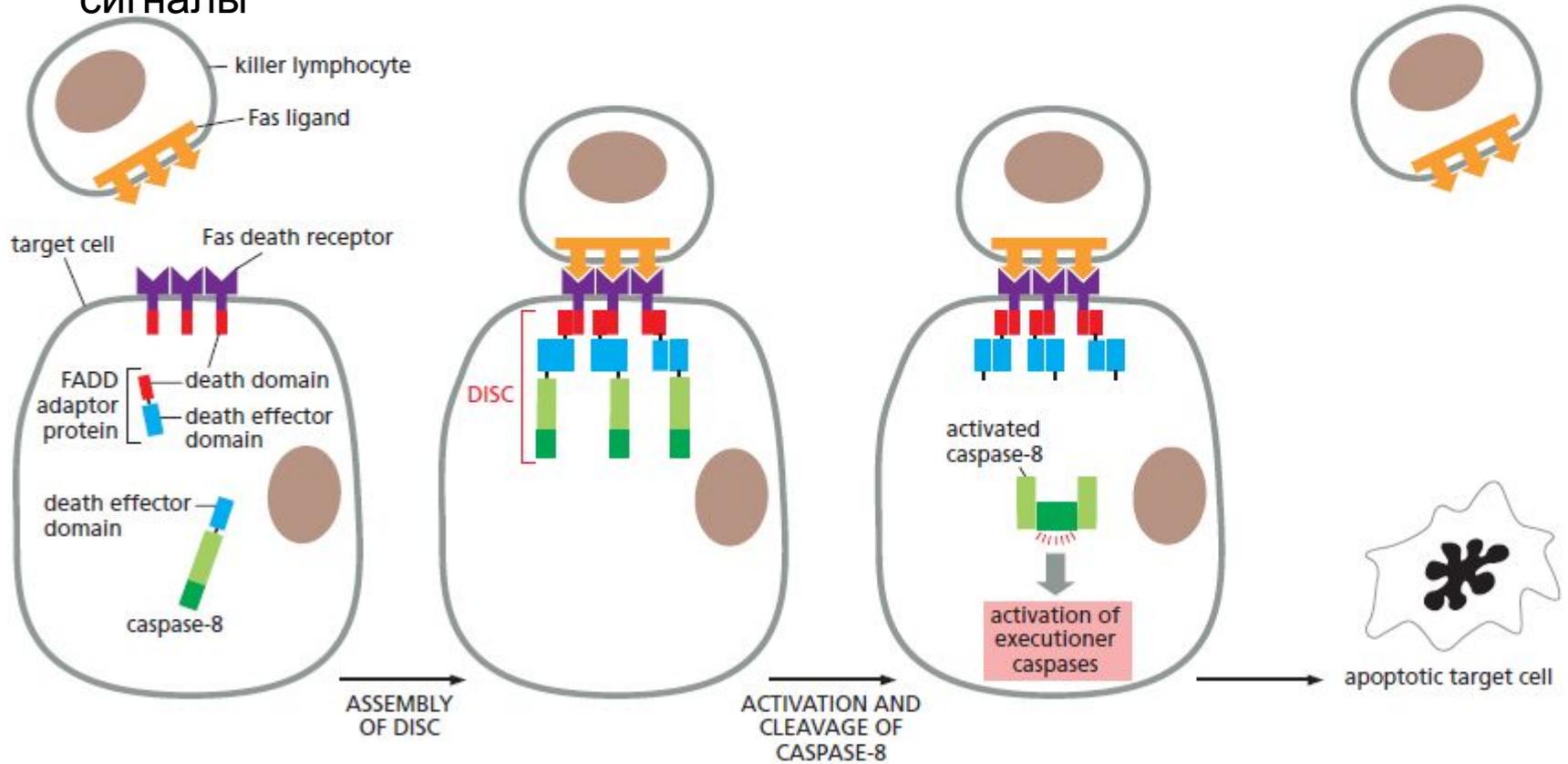


Фагоциты узнают фосфатидилсерин и поглощают фрагменты апоптических клеток

АПОПТОЗ

Внешний

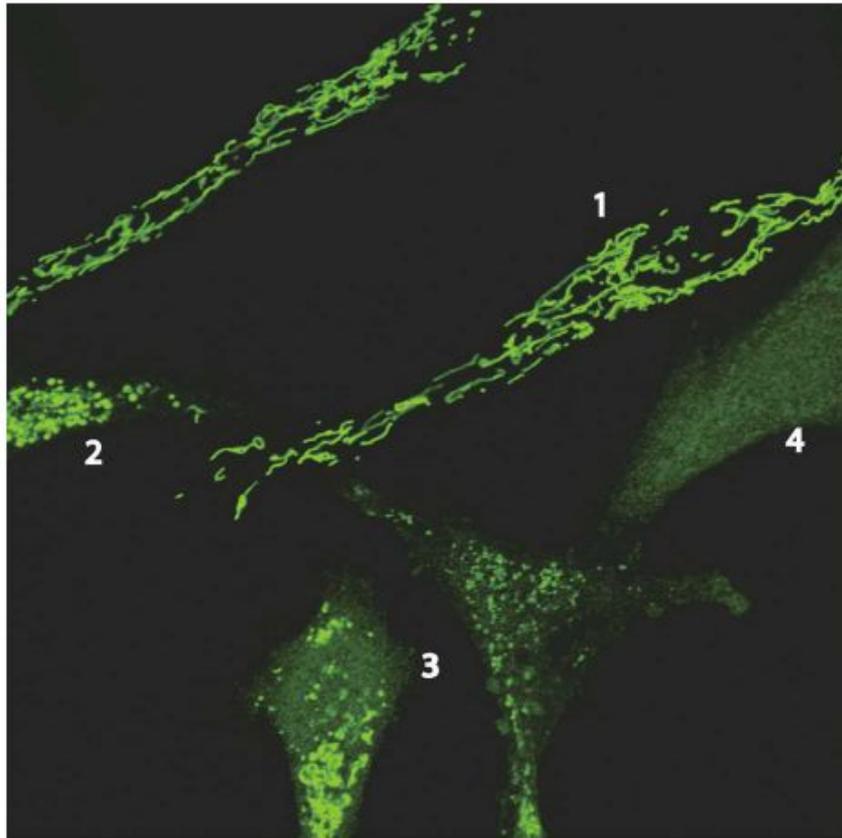
Запуск апоптоза в ответ на ^{ПУТЬ} внеклеточные сигналы



АПОПТОЗ

Внутренний (митохондриальный)

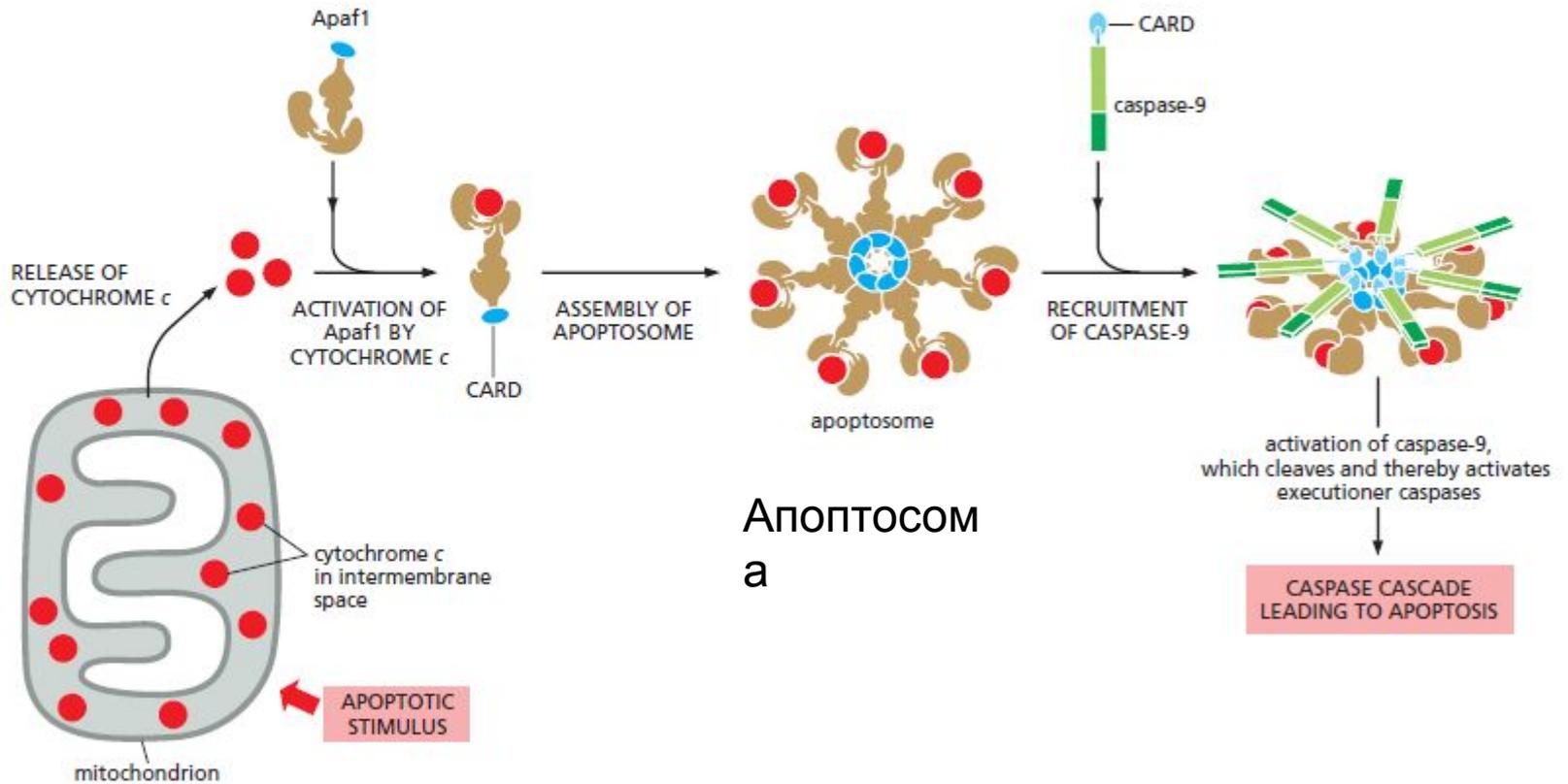
ПУТЬ
Запуск апоптоза в ответ на внутриклеточные сигналы



Выход цитохрома c из митохондрий

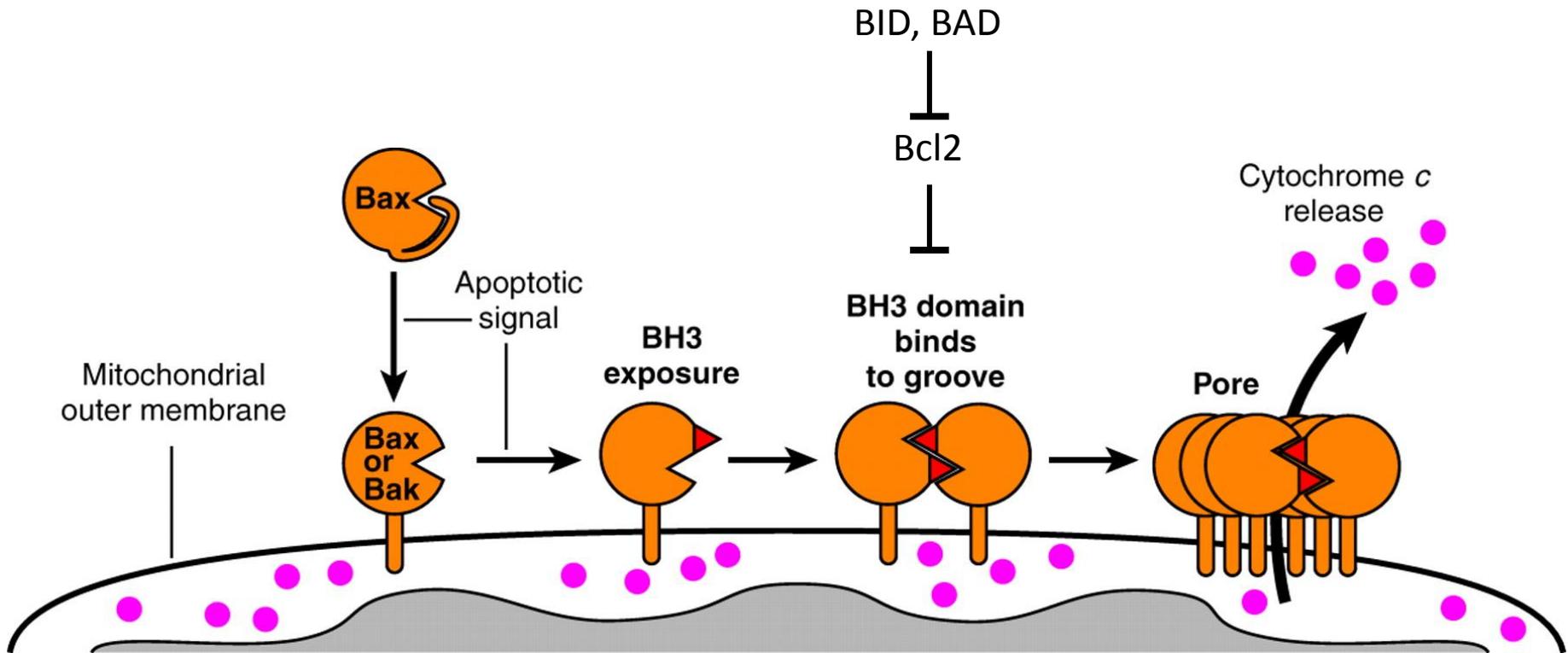
АПОПТОЗ

Внутренний (митохондриальный) путь



АПОПТОЗ

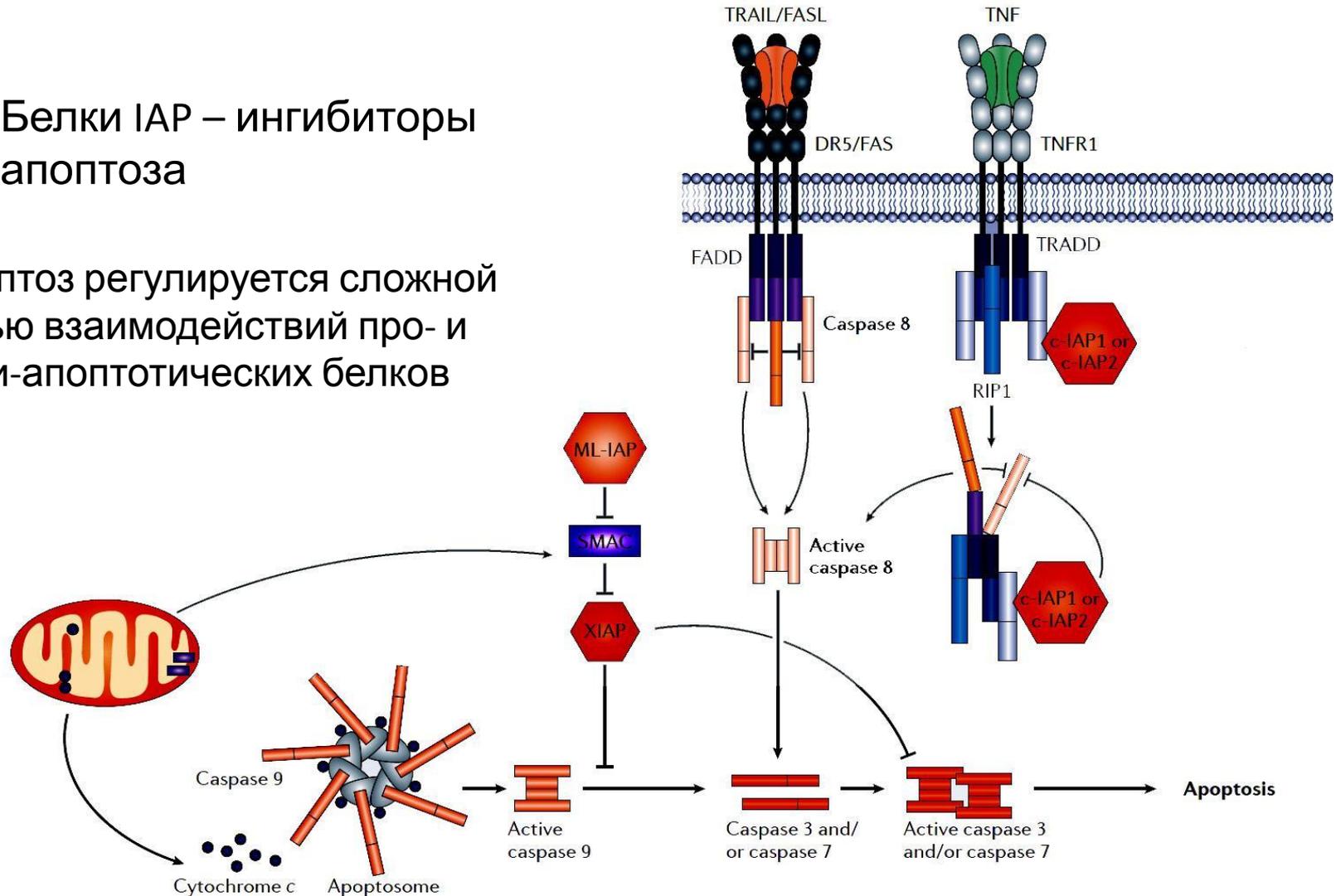
Регуляция – Bcl2 семейство белков



АПОПТОЗ

Белки IAP – ингибиторы апоптоза

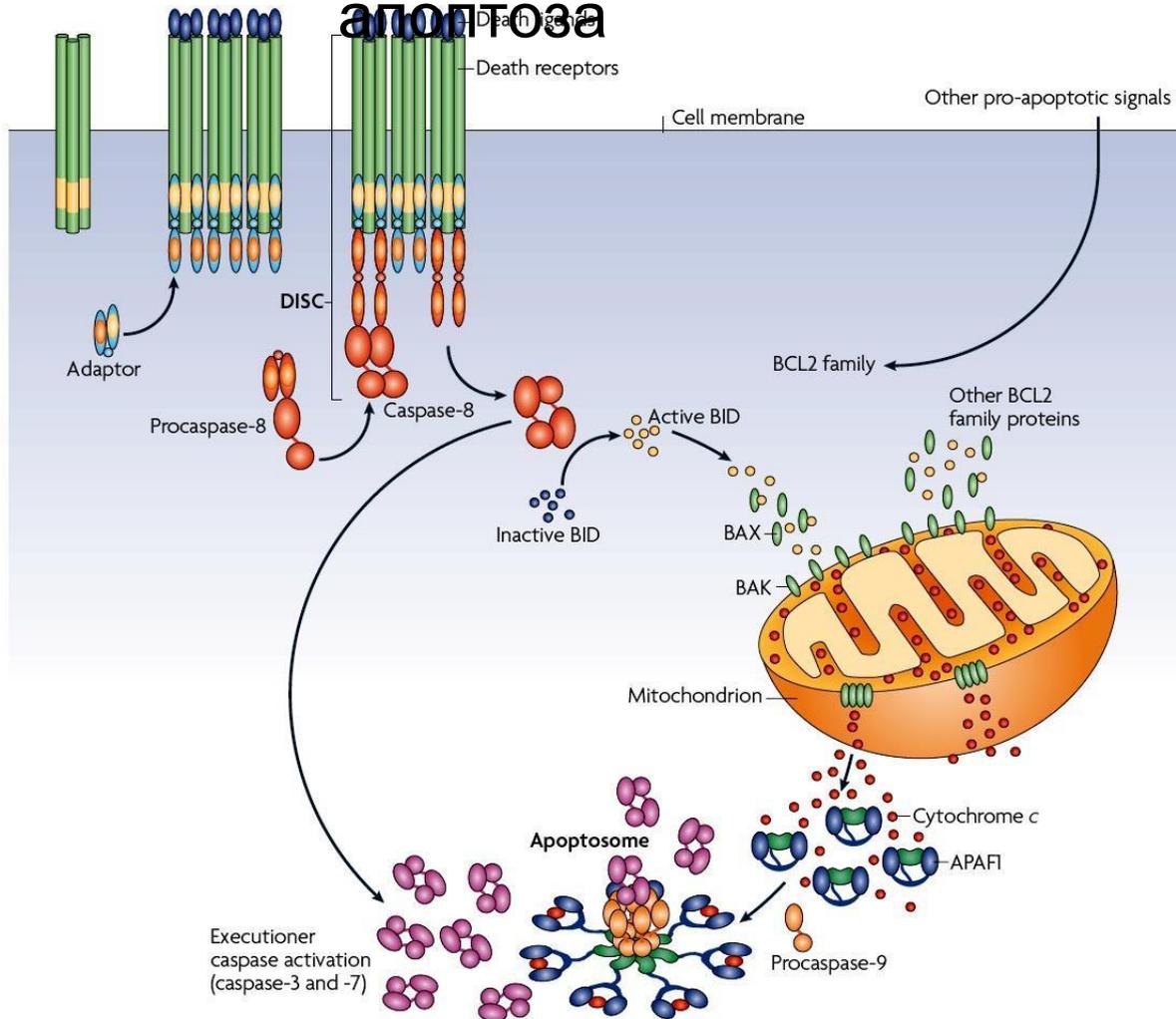
Апоптоз регулируется сложной сетью взаимодействий про- и анти-апоптотических белков



АПОПТОЗ

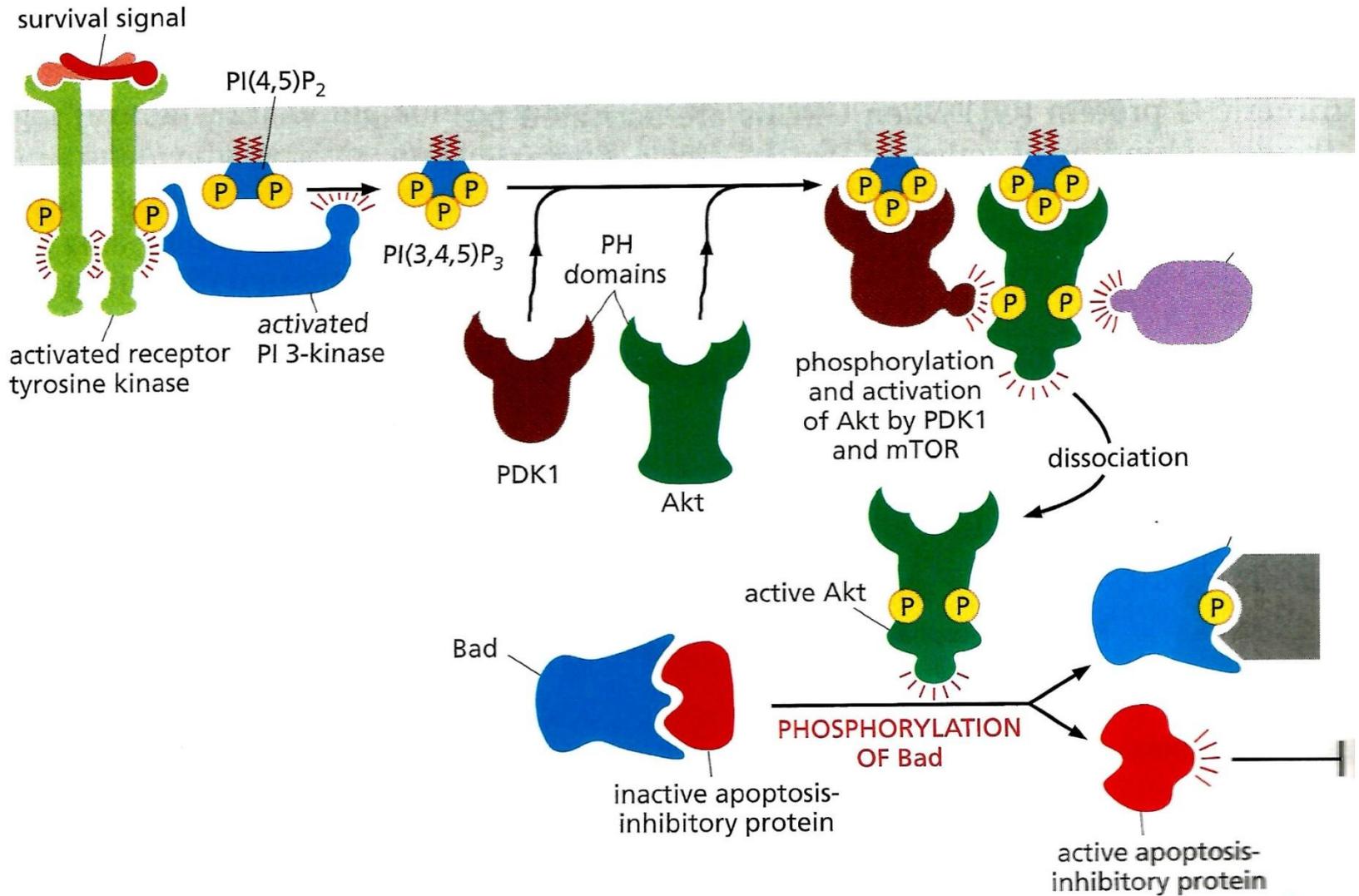
Связь путей

апоптоза



АПОПТОЗ

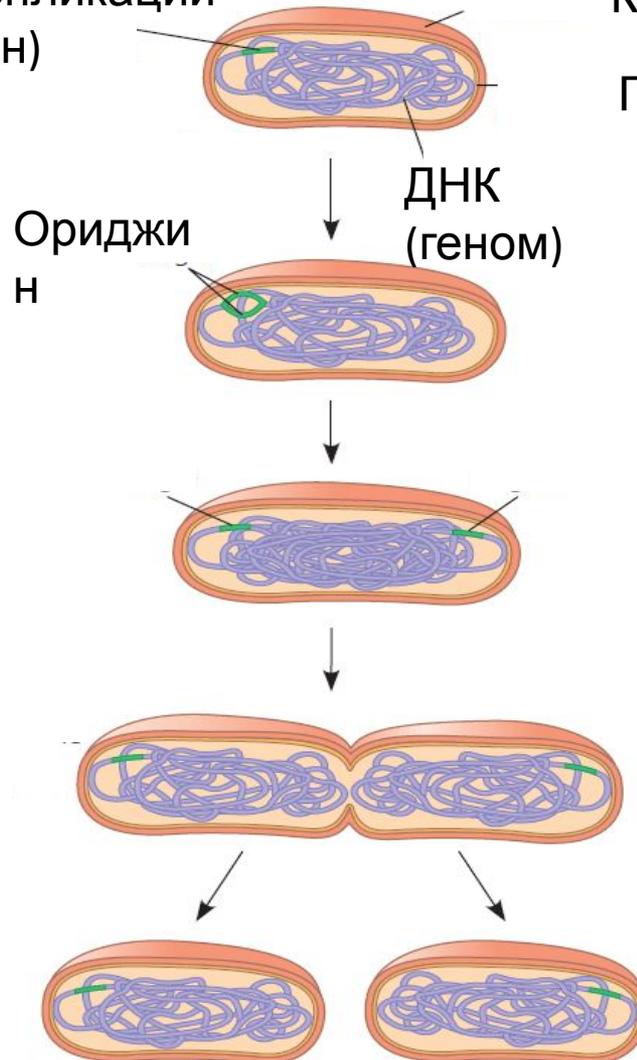
Факторы выживания подавляют



Αποπτοζ

Бактерии: бинарное деление

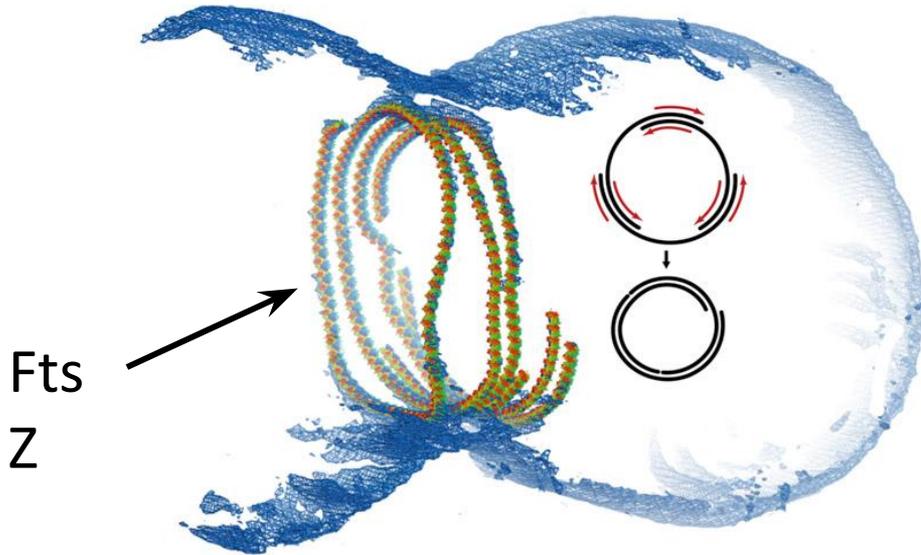
Точка начала репликации
(ориджин)



Клеточная
стенка
Плазматическая
мембрана

Репликация генома
синхронизована с
делением

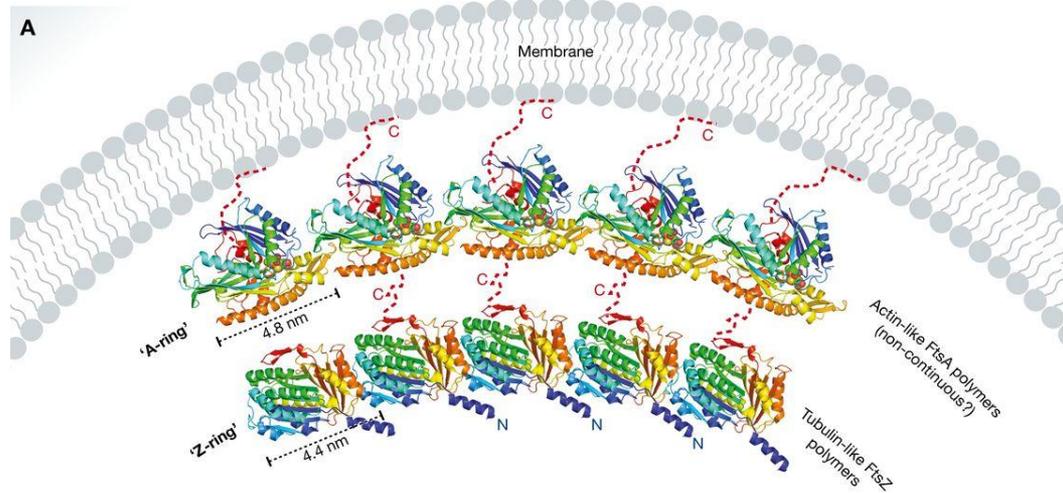
Деление клетки бактерии



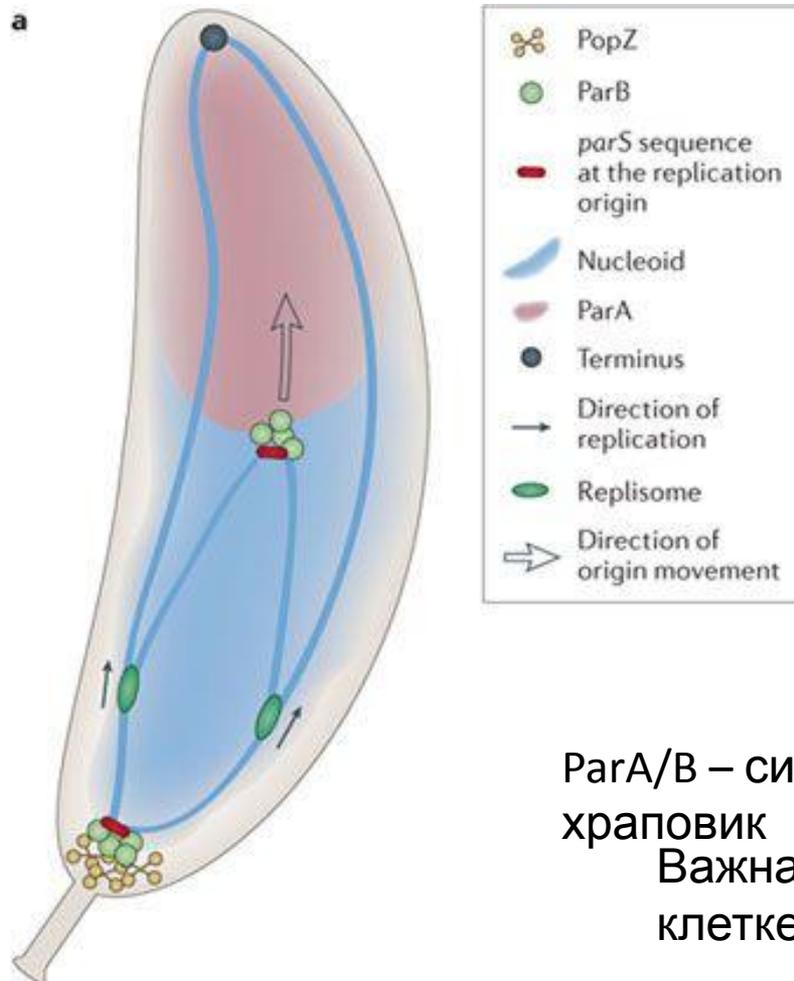
(A)

1 μm

FtsZ – ГОМОЛОГ
ТУБУЛИНА



Деление клетки бактерии: сегрегация хромосом



ParA/V – система – диффузионный храповик
Важна ориентация генома в клетке